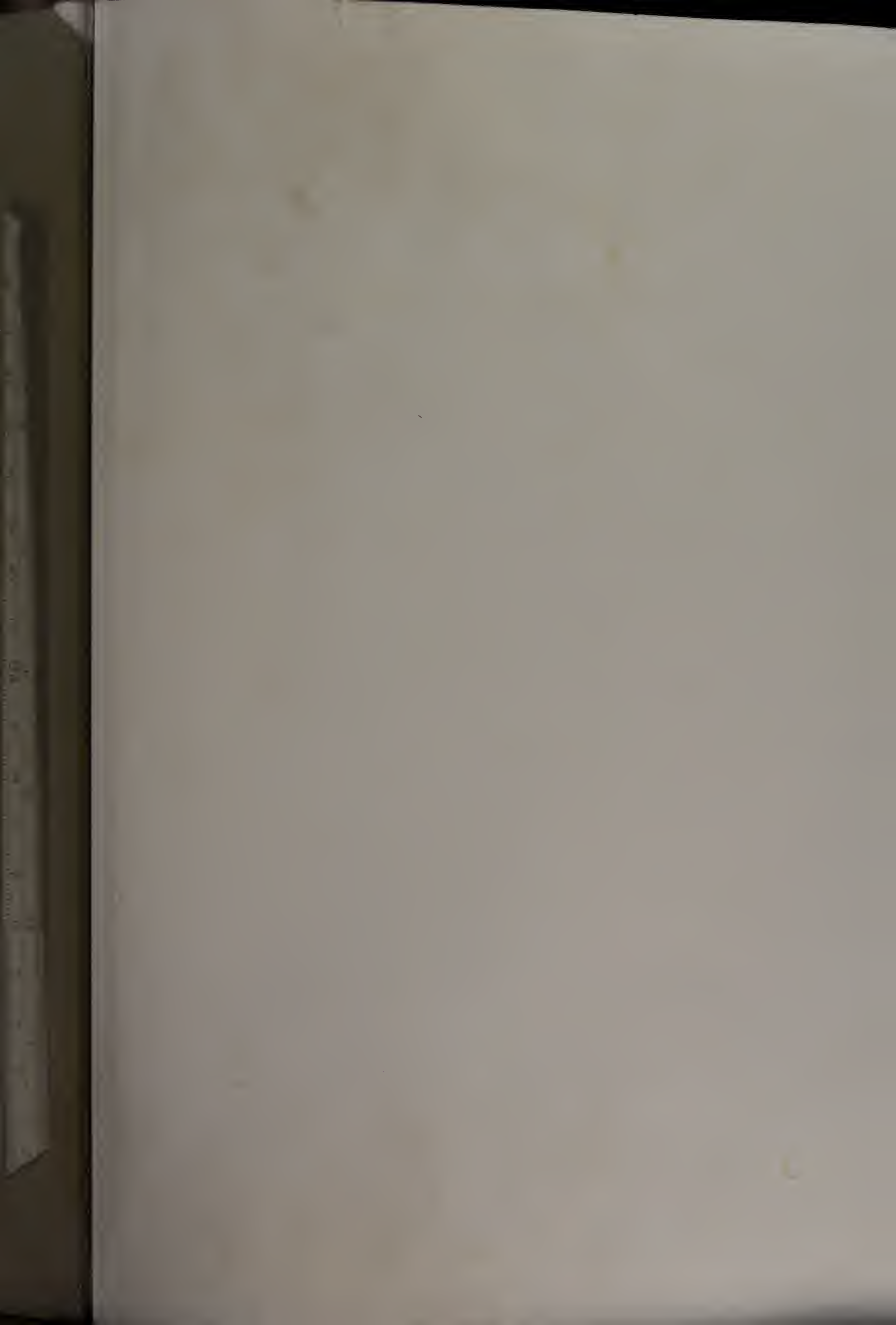


Zeitsch

Vierter

Ver

Nicht im Buchhandel.

6

Abdruck
aus der

Zeitschrift für allgemeine Physiologie.

Herausgegeben von

Dr. Max Verworn,
Professor der Physiologie und Direktor des physiologischen Instituts
an der Universität Göttingen.

Vierter Band. Zweites und drittes Heft. 1904.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.





Die Wirkung von Säuren und Basen auf lebende Paramäcien.

Von Dr. J. O. Wakelin Barratt.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Göttingen.)

Mit einer Abbildung.

(Der Redaktion zugegangen am 15. August 1904.)

Die in dieser Arbeit vorliegenden Versuche bilden nur einen Teil der Studien, die ich über Chemotaxis in bezug auf Säuren und Basen gemacht habe.

Im Laufe meiner Untersuchungen hat es sich bald herausgestellt, daß ein richtiges Verständnis der Art und Weise, wie die Chemotaxis vor sich geht, nur gewonnen werden kann auf Grund vorheriger quantitativer Bestimmung 1) der Konzentration der zum Studium chemotaktischer Erscheinungen verwendeten sauren und alkalischen Lösungen und 2) des absoluten Gewichts der solchen Lösungen zugesetzten Paramäcien. Solange man diese Daten nicht festgelegt, können die Untersuchungen immer nur wenig fruchtbringend sein; ihr Erfolg wird sich eben nur immer auf solche Erscheinungen beschränken, die qualitativen Methoden zugänglich sind.

In der ersten Frage, zu deren Beantwortung ich mich wandte, handelt es sich um die Bestimmung der für lebende Paramäcien tödlichen Konzentrationen von Säuren und Basen. Um nun unter den zu den Versuchen verwendeten sauren und alkalischen Lösungen eine bequeme Vergleichung zu ermöglichen, habe ich durchweg äquimolekulare Lösungen benutzt.

Dem unmittelbaren Zweck der in Rede stehenden Untersuchung entsprechend, ist es vorteilhaft, daß man den zu benutzenden sauren und alkalischen Flüssigkeiten die Paramäcien nicht in großen Quantitäten, sondern in relativ so geringer Menge zufügt, daß da-

durch die Konzentration der Lösungen so gut wie gar nicht verändert wird.

Das Gewicht der Paramäcien bestimmte ich annähernd aus ihrer Zahl; diese wurde nach dem Prinzip der Blutkörperchenzählung festgestellt. Nur in denjenigen Fällen, wo für den Versuch eine große Anzahl von Paramäcien erforderlich war, brachte ich zur Bestimmung der absoluten Menge derselben eine andere Methode in Anwendung, doch soll dieselbe erst später besprochen werden.

Um konstante Resultate zu erzielen, hat man dafür zu sorgen, daß die Paramäcien sich in den verschiedenen Versuchen möglichst in gleichem Zustande befinden. Um dies zu erreichen, schlug ich stets, wenn nicht anders angegeben, folgendes Verfahren ein: Die Organismen wurden aus der Heuinfusion, in der sie gezüchtet waren, mittels Geotaxis in destilliertes Wasser oder durch Zentrifugieren entfernt. Dann wurden sie in eine große Quantität destillierten Wassers übertragen, worin sie 24—48 Stunden verblieben. Danach wurden sie wieder durch Zentrifugieren in einer kleinen Menge frischen destillierten Wassers konzentriert. Durch diese Behandlungsweise wurde jede Vermischung der Heuinfusion, in der die Organismen gelebt hatten, mit den zu den Versuchen verwendeten sauren und alkalischen Lösungen vermieden; kurz, die Paramäcien wurden auf diese Weise in einen Zustand versetzt, der eine Beeinflussung der chemotaktischen Erscheinungen der Tiere von Seiten des Mediums, in welchem sie gezüchtet[1]) waren, soweit wie möglich ausgeschlossen erscheinen läßt.

Alle meine Versuche beziehen sich lediglich auf eine Art Paramäcien, auf Paramaecium aurelia.

Die tödlich wirkenden Konzentrationen von Säuren und Basen.

Die von mir eingeschlagene Untersuchungsmethode bestand darin, daß ich Paramäcien in Lösungen von Säuren bezw. Alkalien von wechselnder aber bekannter Konzentration brachte und dann die Zeit vermerkte, in welcher der Tod eintrat.

Die Zahl der zu einer einzelnen Beobachtung verwendeten Paramäcien wechselte von 10—30; die Menge der sauren oder alkalischen Lösung betrug 10 ccm[2]).

---

1) Tp. H. H. Dale, Galvanotaxis and Chemotaxis of ciliate infusoria. Journ. of Physiol., 1900/1, Vol. 26, p. 291—361.

2) Weiter unten werde ich dartun, daß die angegebene Zahl von Paramäcien die Konzentration der Versuchslösungen zu beeinflussen

Bei der Untersuchung der Wirkung verschiedener Konzentrationen erwies es sich als das Beste, die absteigenden Konzentrationen so zu wählen, daß ihre Werte eine geometrische Reihe bildeten, daß also jede Konzentration die Hälfte der vorhergehenden darstellte. Konzentrationen nach einer arithmetrischen Reihe geordnet, bieten viel zu kleine Sprünge, als daß sie für diese Untersuchung von praktischem Wert sein könnten.

Am bequemsten lassen sich Vorratslösungen von dezinormaler Stärke verwenden, die man sich je nach Bedarf verdünnen kann.

Bei meinen Versuchen kamen als Säuren in Anwendung: Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Ameisensäure, Weinsäure, Oxalsäure, Milchsäure, Citronensäure, Kohlensäure, Karbolsäure, Borsäure und Blausäure. Die von mir benutzten alkalischen Lösungen wurden hergestellt aus den Hydroxyden von Natrium, Kalium, Lithium, Ammonium, Calcium, Strontium und Baryum, und aus Anilin.

Bei der Beurteilung der Toxizität saurer und alkalischer Lösungen von verschiedener Stärke ging ich von der Annahme aus, daß Lösungen einen gleichen Grad von Toxizität besitzen, wenn sie Paramäcien von einer und derselben Kultur, die nach der oben angegebenen Weise für den Versuch vorbehandelt ist, in der gleichen Zeitdauer töten.

In der Praxis stellte es sich nun heraus, daß die bis zum Eintritt des Todes der Paramäcien verstreichende Zeit sich am genauesten bestimmen ließ, wenn sie 10—30 Minuten betrug. Ein Zeitraum von weniger als 10 Minuten erwies sich oft als zu kurz für eine genaue Beobachtung der Tiere mit einer Handlinse. Demgegenüber werden die Versuche in unbequemer Weise in die Länge gezogen, wenn sie die Dauer von einer halben Stunde überschreiten.

Wenn die Tiere sofort oder wenige Minuten nach der Uebertragung in ein saures oder alkalisches Medium bewegungslos werden, so läßt sich mit Sicherheit annehmen, daß sie tot sind, denn sie erlangen nachgewiesenermaßen ihre Bewegungsfähigkeit nicht wieder, auch wenn sie in eine reichliche Menge destillierten Wassers über-

---

nicht imstande ist. Das Volumen von 1000 Paramäcien stellte ich auf annähernd 0,5 cbmm fest. Das Gewicht von 30 Paramäcien beträgt daher ungefähr 0,015 mg, während die Menge der in 10 ccm 0,0001 n-Lösung enthaltenen Salzsäure sich auf 0,036 mg beläuft. Das Verhältnis des Gewichts der Paramäcien zur Menge der Salzsäure ist daher in tödlicher Konzentration 15 : 36 in den in den Tabellen 1 und 3 angeführten Versuchen. Aehnliche Berechnungen können bezüglich der anderen Säuren und der in den Tabellen angegebenen Alkalien angestellt werden.

geführt werden. Tritt Bewegungslosigkeit erst nach 20—30 Minuten ein, so stellt sich nach Zurückversetzung in destilliertes Wasser die Bewegungsfähigkeit selten [1]) wieder her. Eine nach 2 Stunden eintretende Bewegungslosigkeit kann durch den Tod selbst oder auch durch mehr oder weniger schwere Verletzungen, welche die Tiere erlitten haben, veranlaßt sein, oder sie kann lediglich eine Aeußerung der Thigmotaxis sein; welcher Fall vorliegt, läßt sich am besten feststellen, wenn man das die Tiere enthaltende Röhrchen schüttelt und dann unter dem Mikroskop beobachtet, ob die Cilien sich noch bewegen.

Die zwecks Feststellung der minimal tödlichen Konzentrationen von Säuren angestellten Versuche sind in der in Tabelle 1 gegebenen Serie veranschaulicht. Diese ergab sich als typisch aus einer Anzahl solcher Beobachtungen, in denen jedesmal alle die links in der senkrechten Spalte stehenden Säuren der Reihe nach an einer und derselben Kultur von Paramäcien erprobt wurden. Bei der in dieser Weise vorgenommenen Prüfung der Wirkung saurer Lösungen zeigte sich nun, daß diejenige Konzentration, welche die Paramäcien in 10—30 Minuten bei 13° C tötet, scharf gekennzeichnet ist, denn sie unterschied sich in ihrer Wirkungsweise deutlich sowohl von einer doppelt als auch von einer halb so großen Konzentration; die erstere tötete nämlich außerordentlich rasch, während die letztere meist auch innerhalb 24 Stunden nicht den Tod herbeiführte.

Tabelle 1.
Die für Paramaecium aurelia tödlich wirkenden Verdünnungen von Säuren bei 13° C.

HCl Salzsäure				0,0004 N tot innerhalb 1 Min. ←	0,0002 N tot nach Verlauf von 7 Min.	0,0001 N tot nach Verlauf von 5 Std.	0,00005 N lebendig nach Verl. v. 24 Std. →
HNO_3 Salpetersäure				0,0004 N tot innerhalb 1 Min. ←	0,0002 N tot nach Verlauf v. 15 Min.	0,0001 N lebendig nach Verl. v. 24 Std. →	
H_2SO_4 Schwefelsäure				0,0004 N tot innerhalb 1 Min. ←	0,0002 N tot nach Verlauf v. 17 Min.	0,0001 N lebendig nach Verl. v. 24 Std. →	

1) Nicht selten zeigen einzelne Paramäcien beträchtliche Widerstandskraft. So kommt es vor, daß in einem 60 Paramäcien enthaltenden Röhrchen fast alle innerhalb 15 Minuten sterben, bis auf ein oder zwei Tiere, die etwa 30 Minuten bis 1 Stunde oder sogar noch länger überleben.

Fortsetzung der Tabelle 1.

HCOOH Ameisensäure					0,0002 N tot innerhalb 2 Min. ←	0,0001 N tot nach Verlauf v. 15 Min.	0,00005 tot nac Verlau von 5 St
CH_3.CHOH.COOH Milchsäure					0,0002 N tot innerhalb 2 Min. ←	0,0001 N tot nach Verlauf v. 22 Min.	0,00005 lebendi nach Ve v. 24 S
COOH.COOH Oxalsäure					0,0002 N tot nach Verlauf von 1 Min. ←	0,0001 N tot nach Verlauf von 7 Min.	0,00005 lebendi nach Ve v. 24 S
COOH.CHOH. CHOH.COOH Weinsäure					0,0002 N tot innerhalb 1 Min. ←	0,0001 N tot nach Verlauf v. 12 Min.	0,00005 lebendi nach Ve v. 24 S
H_3PO_4 Phosphorsäure					0,0002 N tot innerhalb 1 Min. ←	0,0001 N tot nach Verlauf v. 15 Min.	0,00005 lebend nach Ve v. 24 S
OOH.CH_2 OOH.CH_2 COH.COOH Citronensäure					0,0002 N tot innerhalb 2 Min. ←	0,0001 N tot nach Verlauf v. 13 Min.	0,00005 lebend nach Ve v. 24 S
CH_3.COOH Essigsäure					0,0003 N tot innerhalb 3 Min. ←	0,0002 N tot nach Verlauf v. 30 Min.	0,00005 lebend nach Ve v. 24 S
H_2CO_3 Kohlensäure		0,028 N tot innerhalb 4 Min. ←	0,014 N tot nach Verlauf v. 23 Min.	→			
C_6H_5.OH Phenol		0,02 N tot innerhalb 4 Min. ←	0,01 N tot nach Verlauf v. 23 Min.	0,005 N tot nach Verlauf von 7 Std. →			
H_3BO_3 Borsäure	←	0,45 N tot nach Verlauf v. 12 Min.	0,225 N lebendig nach Verl. von 5 Std. →				
HCN Blausäure	0,06 N tot innerhalb 1 Min. ←	0,3 N tot nach Verlauf von 5 Min.	0,15 N lebendig nach Verl. v. 24 Std. →				

Wenn also die Konzentration von Salpeter-, Salz-, Schwefel-, Oxal-, Wein- und Blausäure, die in der oben genannten Zeitdauer zu töten vermag, verdoppelt wurde, so trat der Tod entweder momentan oder innerhalb 1 Minute ein. Bei Citronen-, Ameisen- und Milchsäure erfolgte der Tod innerhalb 2 Minuten, während im Falle von Essig-, Kohlensäure und Phenol die Zeit um ein geringes länger war, indem etwa 2—4 Minuten verstrichen, ehe alle Organismen bewegungslos waren. Wurde die Konzentration um die Hälfte herabgesetzt, so blieb eine tödliche Wirkung bei Salpeter-, Schwefel-, Milch-, Oxal-, Wein-, Citronen-, Phosphor-, Essig- und Blausäure innerhalb 24 Stunden aus. Die zum Abtöten der Paramäcien in 10—30 Minuten erforderlichen Konzentrationen, die in der Tabelle zwischen den Pfeilen liegen, sind für dieselbe Kultur unter denselben Bedingungen konstant; es ergaben sich jedoch Differenzen bei Benutzung verschiedener Kulturen von Paramäcien, wie sich gleichfalls Variationen herbeiführen ließen durch Aenderung der Bedingungen, unter denen die Tiere vor dem Versuch lebten. In den der Tabelle 1 zu Grunde liegenden Versuchen betrug die Konzentration[1]) der Salz-, Salpeter-, Schwefel- und Essigsäure 0,0002 n, die der Ameisen-, Milch-, Wein- und Zitronensäure 0,0001 n, während die übrigen Säuren in einer bedeutend höheren Konzentration benötigt wurden, nämlich Kohlensäure in 0,014 n, Phenol in 0,01 n, Blausäure in 0,3 n und Borsäure in 0,45 n-Lösung.

Man sieht also, daß die tödliche Konzentration äquivalenter Lösungen in der Reihenfolge Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure bis zu Ameisen-, Milch- und Oxalsäure, welche letzteren schwache Säuren sind, abnimmt, daß sie andererseits schnell zunimmt, sobald man zu den äußerst schwachen Säuren Kohlen-, Karbol-, Bor- und Blausäure gelangt.

In Tabelle 2 handelt es sich um eine andere Kultur von Paramäcien, die, ganz wie die vorbesprochene Kultur, in der auf p. 439 beschriebenen Weise vorbehandelt waren. Diese Kultur wurde mit einer Reihe von basischen Lösungen geprüft und es wurde wiederum die Konzentration bestimmt, die innerhalb von 10—30 Minuten bei 17,5° C den Tod der Organismen zur Folge hatte.

1) Die Konzentration ist äquivalent für alle in den Tabellen 1, 3, 5, 7, 8 und 10 aufgeführten Säuren, außer Kohlen- und Borsäure, welche molekulare Lösungen darstellen.

Tabelle 2.

Die für Paramaecium aurelia tödlich wirkenden Verdünnungen von Basen bei 17,5° C.

	0,04 N	0,02 N	0,004 N	0,003 N	0,002 N	0,001 N	0,0005 N
KOH			tot nach Verlauf von 5 Min. ←	tot nach Verlauf v. 14 Min.	tot nach Verlauf v. 60 Min.	lebendig nach Verl. v. 24 Std. →	
NaOH			tot nach Verlauf von 5 Min. ←	tot nach Verlauf v. 15 Min.	tot nach Verlauf v. 40 Min.	lebendig nach Verl. v. 24 Std. →	
LiOH				tot nach Verlauf von 4 Min. ←	tot nach Verlauf v. 10 Min.	tot nach Verlauf v. 90 Min.	lebendig nach Verl. v. 24 Std. →
$^1/_2$ $Ca(OH)_2$				tot nach Verlauf von 2 Min. ←	tot nach Verlauf v. 10 Min.	tot nach Verlauf von 2 Std.	lebendig nach Verl. v. 24 Std. →
$^1/_2$ $Sr(OH)_2$					tot nach Verlauf von 5 Min. ←	tot nach Verlauf v. 23 Min.	lebendig nach Verl. v. 24 Std. →
$^1/_2$ $Ba(OH)_2$					tot nach Verlauf von 5 Min. ←	tot nach Verlauf v. 30 Min.	lebendig nach Verl. v. 24 Std. →
NH_4OH						tot nach Verlauf von 2 Min. ←	lebendig nach Verl. v. 24 Std. →
$C_6H_5 . NH_2$	tot nach Verlauf v. 15 Min.	tot nach Verlauf von 5 Min. →					

Bei diesen Versuchen ergab sich nun, daß diese Konzentration (sie ist in der Tabelle zwischen Pfeile gelegt) scharf abgegrenzt ist, indem eine weniger als doppelt so große Konzentration in 2—5 Minuten tödlich war, andererseits eine Konzentration von der Hälfte oder weniger als der Hälfte dieser Stärke eine längere Zeit, die zwischen 40 Minuten und 5 Stunden schwankte, in Anspruch nahm, um eine tödliche Wirkung hervorzubringen (Hydroxyde von Natrium, Kalium, Lithium und Calcium und auch Anilin), oder die verwendeten Paramäcien innerhalb 24 Stunden nicht zu töten vermochte. Als die zum Abtöten der Tiere innerhalb 10—30 Minuten notwendige Konzentration[1]) stellte ich an der zum Versuch herangezogenen be-

1) Die Konzentrationen der in den Tabellen 2, 4, 6 und 10 angeführten Basen sind alle äquivalent, indem die Zahlen die Anzahl der Grammäquivalente pro Liter angeben.

sonderen Kultur von Paramäcien für Calcium- und Natriumhydroxyd 0,003 n, für Lithium- und Calciumhydroxyd 0,002 n, für die Hydroxyde von Strontium und Baryum 0,001 n fest, während bei Ammoniumhydroxyd die Konzentration zwischen 0,001 n und 0,0005 n liegt; dagegen ist eine wässerige Lösung von Anilin in einer bedeutend größeren molekularen Konzentration, nämlich 0,04 n, tödlich. Es ist also augenscheinlich, daß die tödlichen Konzentrationen der aufgeführten Basen eine allmählich abnehmende Reihe bilden bis zum äußerst schwachen Elektrolyten Anilin hin, wovon eine bedeutend erhöhte Molekularkonzentration erforderlich ist.

Es besteht also hinsichtlich einer tödlichen Wirkung auf Paramäcien eine allgemeine Analogie, einmal zwischen starken Säuren und starken Alkalien, dann zwischen schwachen Säuren und Ammoniak, endlich zwischen außerordentlich schwachen Säuren und der einzigen, in Tabelle 2 geprüften, außerordentlich schwachen Base.

Alle Versuche, die mit den in Tabelle 2 verzeichneten Basen an anderen Kulturen angestellt wurden, ergaben Resultate, die sich mit den in der Tabelle niedergelegten fast vollkommen deckten.

Wenn man nach einer Erklärung des Unterschiedes zwischen Säuren und Alkalien hinsichtlich tödlicher Konzentration sucht, so fällt natürlich die Tatsache ins Auge, daß der chemische Unterschied zwischen starken und schwachen Säuren als solcher in der H^+-Ionenkonzentration liegt. Eine starke Säure unterscheidet sich von einer schwachen durch den Grad, in welchem sie dissociiert ist; und gerade von diesem Unterschiede hängt die Fähigkeit chemischer Wirkung ab. Aehnlich beruht der Unterschied zwischen starken und schwachen Alkalien auf dem hohen Grade von OH^--Ionisation der ersteren im Vergleich zu dem geringeren Grade, in dem die letzteren dissociiert sind. Es ist daher von Wichtigkeit, die Ionenkonzentration der in diesen Versuchen benutzten Lösungen festzustellen.

Um diese Daten in einer Form zu veranschaulichen, welche eine bequeme Vergleichung der benutzten Säuren und Basen untereinander gestattet, sind die Tabellen 3 (Säuren) und 4 (Basen) aufgestellt worden, in denen die tödliche Konzentration und die entsprechende Dissociation und Ionenkonzentration nebeneinander gesetzt sind. Tabelle 3 stellt eine Reihe von Beobachtungen dar, die bei 13° C ausgeführt wurden; die in Klammern gesetzten Zahlen der zweiten Spalte geben die Minutenzahl an, in welcher die benutzten Lösungen den Tod der Paramäcien herbeiführten. Tabelle 4 veranschaulicht dieselben Versuche wie Tabelle 2, aber die Anordnung ist eine andere als in Tabelle 1, indem die zweite Spalte dieselbe

Tabelle 3.

Vergleichung von tödlich wirkender Verdünnung mit entsprechendem Dissociationsgrade und H^+-Ionenkonzentration.

	Für Paramäcien tödlich wirkende Konzentration	Dissociationsgrad	Entsprechende H^+-Ionenkonzentration $\times 10^4$
HCl	0,0002 N (7′)	$>$·98	$>$ 1,96 N
HNO_3	0,0002 „ (15′)	$>$·99	$>$ 1,98 „
H_2SO_4	0,0002 „ (17′)	$>$·95	$>$ 1,90 „
HCOOH	0,0001 „ (15′)	·75	0,75 „
$CH_3.CHOH.COOH$	0,0001 „ (22′)	·68	0,68 „
COOH.COOH	0,0001 „ (7′)		
COOH.CHOH.CHOH.CHOH	0,0001 „ (12′)		
H_3PO_4	0,0001 „ (15′)		
$COOH.CH_2$ $COOH.CH_2$ COH.COOH	0,0001 „ (13′)		
$CH_3.COOH$	0,0002 „ (30′)	·26	0,52 „
H_2CO_3	0,014 „ (23′)	·0048	0,67 „
C_6H_5OH	0,01 „ (23′)	·000114	0,0114 „
H_3BO_3	0,45 „ (5′)	·000061	0,27 „
HCN	0,3 „ (12′)	·000066	0,20 „

Tabelle 4.

Vergleichung von tödlich wirkender Verdünnung mit entsprechendem Dissociationsgrade und OH^--Ionenkonzentration.

	Für Paramäcien wirkende Konzentration	Dissociationsgrad	Entsprechende OH^--Ionenkonzentration
KOH	0,003 N (14′)	0,96	0,0029
NaOH	0,003 „ (15′)	0,98	0,0029
LiOH	0,002 „ (10′)	—	
$Ca(OH)_2$	0,002 „ (10′)	0,98	0,0020
$Sr(OH)_2$	0,001 „ (23′)	0,98	0,0010
$Ba(OH)_2$	0,001 „ (30′)	0,998	0,0010
NH_4OH	0,001 „ (2′)	0,14	0,00014
$C_6H_5NH_2$	0,04 „ (15′)	0,000108	0,0000043

tödliche Konzentration für alle Basen (0,002 n) außer Ammoniumhydroxyd (0,001 n) und Anilin (0,04 n) darstellt. Die in Klammern angeführten Werte dieser Spalte geben die zum Abtöten der untersuchten Tiere erforderliche Zeit an. Der Dissociationskoeffizient ist (bei 18° C) aus der elektrischen Leitfähigkeit [1]) berechnet, für Salpeter-, Salz-, Schwefel-, Oxal- und Essigsäure und für die Hydroxyde von Kalium, Natrium, Calcium, Strontium und Baryum. Für Ameisen-, Milch-, Essig-, Kohlen-, Karbol-, Bor- und Blausäure und für

1) Nach Kohlrausch und Holborn, Leitvermögen der Elektrolyten.

Ammoniak und Anilin ist der Dissocationskoeffizient (für 25° C) aus der Dissociationskonstante berechnet. Wein- und Citronensäure dissociieren in den in diesen Versuchen benutzten äußerst verdünnten Lösungen nicht wie binäre Komponenten, so daß der Dissociationskoeffizient nicht aus der von konzentrierten Lösungen hergeleiteten Dissociationskonstante ermittelt werden kann. Die verfügbaren Daten lassen weder eine Berechnung des Dissociationskoeffizienten einer 0,0001 n-Lösung von Phosphorsäure, noch einer 0,002 n-Lösung von Lithium zu. Eine annähernde Schätzung des Dissociationsgrades dieser vier Komponenten läßt sich jedoch nach den Tabellen 5 und 6 vornehmen. Der Dissociationskoeffizient von Kohlen- und Borsäure ist wie für binäre Säuren berechnet. Die in der letzten Spalte der Tabellen 3 und 4 gegebene Ionenkonzentration wurde durch Multiplikation der Konzentration mit dem Dissociationskoeffizienten gewonnen und stellt demnach die H^+ oder OH^--Konzentration in Grammäquivalenten pro Liter dar.

Tabelle 5.

Vergleichung von Ionenkonzentration und Leitfähigkeit (vergl. Tabellen 1 und 3).

	Relative Ionenkonzentration	Relative Leitfähigkeit	
		gefunden	berechnet
HCl	99	100	98
HNO_3	100	99	100
H_2SO_4	96	97	96
$HCOOH$	38	42	36
$CH_3.CHOH.COOH$	34	35	
$COOH.COOH$		34	
$COOH.CHOH.CHOH.COOH$		28	
H_3PO_4		17	
$COOH.CH_2$ / $COOH.CH_2$ $COH.COOH$		13	
$CH_3.COOH$	26	21	24
H_2CO_3	34	31	35
C_6H_5OH	0,6	1	
H_3BO_3	14	25	
HCN	10	9	

Da die Herstellung saurer und alkalischer Lösungen von der in diesen Versuchen notwendigerweise zu benutzenden, sehr niedrigen Konzentration äußerste Sorgfalt erfordert, damit eben der relativ hohe Grad von Genauigkeit, der allein zuverlässige Resultate gewährleistet, erreicht werde, ist es offenbar wünschenswert, Mittel anzuwenden, durch welche die Ionisation gleich während des Versuches gemessen und mit der berechneten Stärke verglichen werden kann.

Erst danach sind wir in der Lage, zu beurteilen, ob die kleineren zwischen den einzelnen Säuren und Basen bestehenden Unterschiede, die in Tabelle 3 und 4 zu Tage treten, innerhalb oder außerhalb der Fehlergrenze liegen. Nun ist der relative Grad der Ionisation ja leicht aus der Leitfähigkeit der Lösungen zu bestimmen. Diese Bestimmungen wurden mittels des in der Textfigur, p. 463 veranschaulichten Apparates ausgeführt. In das Widerstandsgefäß *C* wurden die benutzten Lösungen gebracht, und die Stärke des durch den Accumulator *A* erzeugten Stromes wurde bei momentaner Schließung derselben an dem empfindlichen Galvanometer *G* abgelesen, wie bei den in den Tabellen 7—11 aufgezeichneten Versuchen. Da die Leitfähigkeit proportional der Stärke des Stromes ist (die elektromotorische Kraft bleibt unverändert), so läßt sich die Ionenkonzentration der benutzten Lösungen leicht vergleichen. Der durch diese Ueberlegung vorgezeichnete Weg erwies sich als sehr zweckmäßig, da er nicht nur die Richtigkeit der berechneten Konzentration zu prüfen gestattete, sondern überdies Tabelle 5 noch zufällige bei der Herstellung der Lösungen gemachte Fehler enthüllte, und zwar gerade an einem Zeitpunkte, wo die betreffenden Lösungen bei Paramäcien in Verwendung treten sollten. Welche Genauigkeit sich in den in dieser Arbeit angeführten Versuchen erreichen ließ, ersieht man aus den Tabellen 5 und 6, wo die berechnete Ionisation und die wirkliche Leitfähigkeit nebeneinander gestellt sind. Der bequemeren Vergleichung halber sind nur relative Werte angegeben; die Ionisation und Leitfähigkeit von Salzsäure (siehe Tabelle 5) und von Natriumhydroxyd (siehe Tabelle 6) ist = 100 gesetzt worden.

Tabelle 6.

Vergleichung von Ionenkonzentration und Leitfähigkeit (vergl. Tabellen 2 und 4).

	Relative Ionenkonzentration	Relative Leitfähigkeit	
		gefunden	berechnet
KOH	98	100	100
NaOH	100	98	93
LiOH		68	
$Ca(OH)_2$	67	67	65
$Li(OH)_2$	33	35	33
$Ba(OH)_2$	34	35	33
NH_4OH	5	5	5
$C_6H_5NH_2$	1,5		

Die ersteren Werte sind der letzten Spalte von Tabelle 3 resp. 4 entnommen. Man sieht, daß die Ionenkonzentration der benutzten sauren und alkalischen Lösungen ziemlich genau mit der beobachteten

und berechneten Leitfähigkeit übereinstimmt. Daraus geht hervor, daß Versuchsfehler in dem Umfange, daß sie den Wert der aus diesen Tabellen hergeleiteten Schlüsse zu beeinträchtigen im stande wären, hier keineswegs vorliegen; die nahe Uebereinstimmung der gewonnenen Resultate ist gerade dazu angetan, jene Schlüsse zu bestätigen. Die im Falle von Borsäure hervortretende erhebliche Differenz stellte sich beständig ein und muß auf Verunreinigungen in den verwendeten Proben zurückgeführt werden, Verunreinigungen, die, wenn auch nur in geringer Menge vorhanden, für den Fall, daß sie Elektrolyte sind, infolge der benutzten hohen Konzentration ganz bedeutend ins Gewicht fallen [1]).

Bei Prüfung der tödlichen Wirkung der in Tabelle 3 angeführten Säuren, die für die benutzten Konzentrationen nach Möglichkeit in der Reihenfolge ihrer Dissociationskoeffizienten geordnet sind und die drei Gruppen bilden, erfährt man, daß die Ionenkonzentration der die erste Gruppe bildenden starken Säuren, nämlich Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure, fast die gleiche ist, d. h. 0,0002 n bei einer annähernd gleich giftigen. Wirkung. Hinsichtlich ihrer tödlichen Wirkung lassen sich diese Säuren, wenn sie gleichzeitig geprüft werden, gewöhnlich in der gegebenen Reihenfolge ordnen.

Bei der zweiten Gruppe, die aus jenen Säuren besteht, deren Dissociation zwischen 75 Proz. und 25 Proz. schwankt, bemerkt man, daß die ersten vier, nämlich Ameisen-, Milch-, Oxal- und Weinsäure, giftiger als die mineralischen Säuren sind, indem sie gewöhnlich in fast derselben Zeit [2]) töten, wenn sie nur die Hälfte der molekularen und weniger als die Hälfte der Ionenkonzentration der ersteren be-

1) Die in diesen Versuchen verwendeten äußerst schwachen Elektrolyte besaßen den erreichbar höchsten Grad von Reinheit (nach Merck). Synthetisch dargestelltes Phenol ergab ähnliche Resultate wie das natürliche Produkt. Wenn Phenol und Anilin unrein sind, so erweisen sie sich weit giftiger als Proben, die einen hohen Grad von Reinheit besitzen.

2) Die in Klammern gesetzten Zeitwerte in der zweiten Spalte der Tabellen 3 und 4 geben die Anzahl Minuten an, die verstrichen, ehe alle vorhandenen Paramäcien bewegungslos wurden. Da einige der Organismen vielleicht 5 Minuten oder noch länger beweglich bleiben können, nachdem schon das Gros der Organismen die Beweglichkeit verloren hat, so ist die Angabe kürzerer Zeiträume für einige der Beobachtungen statthaft. Es liegt jedoch klar auf der Hand, daß bei Angabe der vollständigen Zeiten eine größere Genauigkeit erreicht wird. Bei Wiederholung der Beobachtungen ergaben sich nur geringe Abweichungen in den relativen tödlichen Zeiten.

sitzen. Die übrigen drei Säuren, Phosphor-, Citronen- und Essigsäure, deren Ionenkonzentration ebenfalls niedrig ist, töten nicht selten in längeren Zeiträumen als jene in Tabelle 3 gegebenen. Die obigen Tatsachen treten noch auffallender hervor, wenn für alle Säuren dieselbe Konzentration gebraucht und die Toxizität nach der Zeit beurteilt wird, in welcher die Paramäcien getötet werden. An der besonderen Kultur von Paramäcien, die für die in Tabelle 1 angegebenen Versuche verwendet wurde, erwies sich jedoch die Konzentration von 0,0002 n als zu kräftig, während die Konzentration von 0,0001 n nicht schnell genug tötete.

Die dritte Gruppe von Säuren, welche die schwachen Elektrolyte Kohlen-, Karbol-, Bor- und Blausäure enthält, bildet einen scharfen Gegensatz zu den beiden vorhergehenden Gruppen. Bei einer relativ beträchtlichen Molekularkonzentration besitzen die Säuren der dritten Gruppe einen außerordentlich kleinen Dissociationskoeffizienten. Die Ionenkonzentration der Kohlensäure beträgt bei einer annähernd gleich tödlichen Wirkung etwa ein Drittel derjenigen der starken mineralischen Säuren; die der Borsäure beläuft sich auf etwa ein Viertel und die der Blausäure auf ein Fünftel. Phenol bildet den größten Gegensatz zu den starken Säuren, denn seine Ionenkonzentration beträgt nur wenig mehr als ein Zweihundertstel von der der ersteren.

Aus der Gegenüberstellung der äquivalenten und der Ionenkonzentration ersieht man, daß bei einer gleich tödlichen Wirkung die erstere, wie der Dissociationskoeffizient abnimmt, etwas geringer wird; sie sinkt nämlich von 0,0002 n bei den starken Säuren auf 0,0001 n bei den schwachen Säuren (außer Essigsäure) herab; sie nimmt dann zu, sobald man zu den schwachen Elektrolyten Kohlen-, Karbol-, Bor- und Blausäure kommt, bis schließlich im Falle von Borsäure eine Konzentration von 0,45 n notwendig ist. Die Ionenkonzentration hingegen nimmt beständig ab ohne jede bemerkenswerte Unterbrechung, außer bei Phenol; der Abnahmewert ist jedoch bedeutend geringer als der Zunahmewert der Molekularkonzentration. Die Ionenkonzentrationen lassen sich am besten in Tabelle 5 übersehen, wo sie in Prozentsatz angegeben sind, damit sie sich ebenso leicht vergleichen lassen wie die äquivalenten Konzentrationen und Dissociationskoeffizienten in Tabelle 3.

Die Zahl der untersuchten Basen ist nicht so groß wie die der Säuren, auch bieten sie nicht so viel Mannigfaltigkeit. Ganz analog wie bei den starken Säuren sind die starken Alkalien, die Hydroxyde zweier periodischer Gruppen von Metallen (Tabelle 4 und 6). Nur

ein einziges Glied der Serie entspricht den schwachen Säuren, nämlich Ammoniumhydroxyd, während in ähnlicher Weise die Säuren, welche extrem schwache Elektrolyte darstellen, unter den Basen allein durch Anilin vertreten sind. Demzufolge ist die Gruppierung der Basen nicht so vollkommen zur Anschauung gebracht, wie dies bei den Säuren geschah. In den Tabellen 4 und 6 richtet sich die Anordnung nach dem Dissociationskoeffizienten; da die metallischen Hydroxyde aber fast vollständig dissociiert sind, so kann man sie in ihrer periodischen Ordnung aufzeichnen, nämlich in der Reihenfolge Kalium, Natrium, Lithium und Calcium, Strontium und Baryum. Sehr interessant ist die Beobachtung, daß, wie die in den Tabellen 2 und 4 nach Minuten angegebenen tödlichen Zeitwerte anzeigen, der toxische Charakter parallel mit der periodischen Ordnung verläuft. Während so Kaliumhydroxyd in 0,002 n Konzentration in 60 Minuten bei Paramäcien sich als tödlich wirkend erwies, töteten Natrium- und Lithiumhydroxyd unter denselben Versuchsbedingungen in 40 und 10 Minuten. In ähnlicher Weise wirkten Calcium-, Strontium- und Baryumhydroxyd, unter denselben Bedingungen auf Paramäcien angewendet, in 10 resp. 5 und 5 Minuten tödlich.

Bei Vergleichung der Ionenkonzentrationen der verwendeten Basen stellt sich heraus, daß, gerade wie die schwach dissociierten Säuren bei geringerer Ionenkonzentration schädlicher wirken als die starken Säuren, so unter den Basen das schwach dissociierte Ammoniak (bei 0,001 n Konzentration zu 14 Proz. dissociiert) auf Paramäcien bei einer viel geringeren Ionenkonzentration tödlich wirkt als die starken Alkalien (Verhältnis der Ionenkonzentrationen ungefähr 7 : 100). In ähnlicher Weise wirkt der extrem schwache Elektrolyt Anilin, dessen relative Leitfähigkeit sich als zu gering erwies, als daß sie mit dem in der Textfigur vorgeführten Apparate hätte genau gemessen werden können (denn er besitzt einen außerordentlich kleinen Dissociationskoeffizienten, nämlich $4{,}9 \times 10^{-10}$ für die benutzte 0,04 n Konzentration) auf Paramäcien bei einer Ionenkonzentration tödlich, welche in ihrem niedrigen Grade ($4{,}32 \times 10^{-6}$ n) mit den tödlichen Konzentrationen jener Säuren vergleichbar ist, die extrem schwache Elektrolyte sind. Aber e i n charakteristischer Zug tritt bei den Basen hervor, welchen die Serie der Säuren nicht klar hat erkennen lassen, nämlich der, daß unter den metallischen Alkalien die tödliche Ionenkonzentration, abgesehen von dem Dissociationsgrade, welcher praktisch konstant bleibt, eine Anordnung zeigt, welche der periodischen Gruppierung entspricht. Eine ähnliche Reihenfolge dürfte zu erwarten sein, wenn eine progressiv substituierte Reihe organischer

Säuren in ähnlicher Weise bezüglich ihrer tödlichen Wirkung auf Paramäcien geprüft würde.

Aus der Gegenüberstellung der Molekular- (Tabelle 4) und Ionenkonzentrationen (Tabelle 6) geht hervor, daß bezüglich einer tödlichen Wirkung innerhalb 10—30 Minuten (vergl. Tabelle 2) die äquivalente Konzentration, wenn man von Kalium-, Natrium-, Lithium- und Calciumhydroxyd ausgeht, zuerst abnimmt (Strontium-, Baryum- und Ammoniumhydroxyd), daß dann aber, sobald man zum Anilin kommt, eine merkliche Zunahme erfolgt, obgleich die Ionenkonzentration andererseits beständig im Abnehmen begriffen ist. Der Abnahmewert zeigt ein bedeutendes Mißverhältnis zum Zunahmewerte äquivalenter Konzentration. Während der letztere um das 13fache anwächst, vermindert sich der erstere im Verhältnis von 67 : 1 (Tabelle 6).

Die Natur der Wirkung von Säuren und Basen auf das Paramaecium.

Die Auslegung der in den Tabellen 3 und 4 gegebenen Daten schließt keine Kenntnis des Wesens der Wirkung von Säuren und Alkalien auf Paramäcien in sich. Denn nur der Grad der chemischen Wirkung ist von dem Ionisationsgrade dieser Stoffe abhängig, aber die Natur solcher Wirkungen bleibt noch zu bestimmen. Theoretisch sind zwei Arten von Wirkungen möglich: 1) eine katalytische Wirkung, wobei die betreffende Säure bezw. das Alkali in unverminderter Konzentration verbleibt, wenn die Wirkung aufgehört hat, und 2) eine chemische Umsetzung, in deren Verlauf die Säure und das Alkali aufgebraucht werden.

In Anbetracht der Tatsache, daß in den letzten Jahren zahlreiche Substanzen durch Spaltung von Proteidmolekeln mittels saurer und alkalischer Lösungen dargestellt wurden, wird die Möglichkeit, daß solche Einwirkungen auch während des Lebens des Protoplasmas vorkommen und die entscheidende Ursache seines Todes sind, von bedeutendem Interesse. Die in den Tabellen 3 und 4 gegebenen Resultate sprechen jedoch gegen diese Erklärung, da, falls eine rein katalytische Wirkung in Frage käme, die H^+- und OH^--Ionenkonzentration dieselbe für alle verwendeten Säuren und ebenfalls für alle Basen bleiben würde, indessen tatsächlich eine geringe Abnahme der H^+-Ionenkonzentration außerhalb der experimentellen Fehlergrenze bei den schwächeren Säuren im Vergleich zu den stärkeren besteht, während sich eine merkliche Abnahme bei den schwächeren Säuren zeigt, indem die

tödliche Wirkung unverändert bleibt. Ein ähnliches Verhältnis tritt bei den benutzten Basen hervor.

Daß Säuren und Alkalien mit lebendem Protoplasma eine chemische Reaktion eingehen und so seinen Tod herbeiführen könnten, muß prima facie als wahrscheinlich zugegeben werden. Daß sich Säuren mit Eiweißkörpern verbinden, ist von COHNHEIM durch vergleichende Versuche bezüglich der invertierenden Wirkung von Salzsäure auf Rohrzucker dargetan worden, wobei die beiden letzteren das eine Mal allein, das andere Mal bei Vorhandensein von Proteid [1]) zusammengebracht wurden. Aehnlich haben BUGARSKY und LIEBERMANN [2]) die Verbindung von Säuren und Alkali mit Proteid durch Gefrierpunktsbestimmungen und mittels Konzentrationsketten klargelegt. Alle jene Versuche sind jedoch an totem Proteid angestellt worden. Daß beim lebenden Plasma eine ähnliche chemische Veränderung stattfindet, läßt sich aus den in den Tabellen 3 und 4 gegebenen Resultaten schließen, insbesondere 1) aus dem von verschiedenen Säuren und Basen gezeigten Ionisationswechsel; 2) aus dem intensiv toxischen Charakter der schwachen Elektrolyte; 3) aus dem Parallelismus zwischen tödlicher Wirkung und periodischer Anordnung der Basen [3]) in Bezug auf lebendes Protoplasma. Indessen erbringen jene Tatsachen, obwohl sie zu dem Schluß führen, daß eine chemische Reaktion zwischen lebendem Protoplasma einerseits und Säuren und Alkalien andererseits stattfindet, nicht den Beweis für das Vorhandensein einer solchen Reaktion. Um die Frage zu entscheiden, ob Säuren und Alkalien eine chemische Reaktion mit Protoplasma eingehen, welches zu Beginn der Wirkung und auch in deren Verlauf lebendig ist, wurden die folgenden 3 Versuchsreihen betreffs der tödlichen Wirkung von Säuren und Basen unternommen. Bei diesen Versuchen kam nun statt einer geringen Anzahl von Paramäcien, wie sie oben im Interesse der Konstanterhaltung der Konzentration der sauren und alkalischen Lösungen erforderlich war, eine ganz beträchtlich größere Zahl zur Verwendung, so daß also das Protoplasmavolumen groß war im Vergleich zu dem der Säure.

1) Zeitschr. f. Biol., Bd. 33, 1896, p. 489. Verf. fand, daß Albumose sich mit 4,16 Proz. ihres Gewichtes Salzsäure bei 40° C, Protalbumose mit 4,32 Proz., Deuteroalbumose mit 5,48 Proz. und Antipeptone sogar mit 15,87 Proz. derselben Säure verband.

2) PFLÜGERS Arch., Bd. 72, 1898, p. 51.

3) Auf die Möglichkeit, daß progressiv substituierte Reihen organischer Säuren eine entsprechende Anordnung in ihrer tödlichen Konzentration zeigen, ist schon hingewiesen worden.

Erste Versuchsreihe. Als Vorversuche wurde nun eine Reihe von Beobachtungen angestellt, in denen Paramäcien in relativ großer Anzahl in 0,0002 n-Lösungen von Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure und 0,002 n-Lösungen von Natrium- und Kaliumhydroxyd gebracht wurden, unter Zusatz von soviel Methylorange und Phenolphthalein, bis eine rote Färbung eintrat. Es stellte sich heraus, daß, obgleich die sich ergebende Farbe schwach war, doch nach Verlauf von 30 Minuten bis 1 Stunde ein deutliches Blaßwerden der roten Färbung wahrzunehmen war, wenn man die Flüssigkeit in einer genügend langen Säule beobachtete. Durch Kontrollversuche wurde festgestellt, daß das die Paramäcien enthaltende destillierte Wasser frei von irgend welcher Substanz war, welche die Farbe der verwendeten Indikatoren in merklichem Grade hätte beeinflussen können. Im Falle von Phenolphthaleïn hat ein solcher Farbenwechsel nur so lange Bedeutung, als er kurze Zeit nach Zusatz der Paramäcien eintritt, denn die Alkalisalze des Phenolphthaleins entfärben sich schnell infolge der durch die Organismen in Freiheit gesetzten Kohlensäure. Bei Beobachtung aller dieser Vorsichtsmaßregeln zeigte sich aber in der Regel, daß schnell ein zwar geringer, aber doch deutlicher Farbenwechsel erfolgte, wenn in die mit Indikatoren versetzten sauren resp. alkalischen Lösungen große Mengen von Paramäcien eingetragen wurden. Wenn man das die Paramäcien enthaltende destillierte Wasser durch Zentrifugieren von denselben befreite und dann mit dem Wasser Kontrollversuche anstellte, so ließ sich entweder kein Farbenwechsel nachweisen, oder ein solcher war unbestimmt.

Zweite Versuchsreihe. Den mineralischen Säuren von 0,0002 n Konzentration wurde eine reichliche Menge von Paramäcien, die nach der auf p. 439 beschriebenen Weise gewonnen waren, zugesetzt. Es ergab sich, daß ein großer Teil[1]) überlebte und auch nach Verlauf von 24 Stunden noch lebendig und lebhaft beweglich war, obgleich in der ursprünglichen sauren Lösung, wie sich durch einen Kontrollversuch feststellen ließ, bei etwa 30 Paramäcien, die in dieselbe eingetragen wurden, sofort der Tod eintrat und nicht ein einziges Tier am Leben blieb. Dasselbe trat ein, wenn die überlebenden Paramäcien, die den sauren Lösungen ursprünglich im Uebermaß zugesetzt waren, in eine frische Röhre von Säure derselben Konzentration gebracht wurden. Es erhellt daraus, daß in den Kontrollversuchen die Menge der Organismen zu gering war, um die Konzentration merklich anzugreifen; letztere wurde jedoch abge-

---

1) Z. B. ungefähr $^1/_3$ bei Salzsäure.

schwächt, sobald eine große Anzahl Organismen Verwendung fand. Das betreffende Volumen von Paramäcien war gewöhnlich etwa 30 cmm auf 10 ccm oder 20 ccm Flüssigkeit. So ergibt sich im Falle von Salzsäure ein Verhältnis von annähernd 1000 oder 500 Gewichtsteilen Paramäcien auf einen Teil Salzsäure; die Organismen sind also hier sowohl wie in allen anderen Versuchen dieser Reihe zu der betreffenden Säure in bedeutendem Uebermaße vorhanden.

Daß der Grad der Säureabsorption in diesen Versuchen relativ gering ist, läßt sich aus der großen Menge von Organismen schließen, welche einer Lösung zugesetzt werden muß, um ihre Konzentration um einen beträchtlichen Grad zu reduzieren. In Anbetracht der Tatsache, daß eine 4fache Verdünnung, d. h. eine Reduktion von Säure bei einem gegebenen Volumen auf ein Viertel, hinreicht, eine Flüssigkeit unschädlich zu machen, welche Paramäcien sonst in einigen Minuten zu töten im stande ist, läßt sich mit gutem Grund annehmen, daß in meinen Versuchen eine entsprechend merkliche Reduktion statthat [1]).

Es mag hier nochmals darauf hingewiesen werden, daß bei vorliegender Besprechung betreffs der Einwirkung von Säuren und Alkalien auf Paramäcien möglichst immer nur solche Erscheinungen in Betracht gezogen sind, bei denen es sich um lebendes Protoplasma handelt. Ich habe eben in diesen meinen Versuchen die Wirkung der Säuren und Alkalien auf totes Protoplasma, die wahrscheinlich gänzlich verschieden ist von der auf lebendes Plasma sich äußernden, so weit als irgend angängig, ausgeschaltet. Meine Untersuchungen haben sich die Aufgabe gestellt, die Wirkung der Säuren und Alkalien im wesentlichen nur in ihrem ersten Stadium zu verfolgen, und dieses reicht bis zum Eintritt des Todes. In dieser Hinsicht unterscheiden sich die vorliegenden und die weiter darzulegenden Versuche von

1) Wenngleich die von Paramäcien absorbierte Menge von Säure und Alkali gering ist, so würde sie jedoch viel größer erscheinen als die von Alkaloiden, wie z. B. Strychnin, denn die Wirkung dieses Alkaloids läßt sich selbst in extrem schwachen Konzentrationen wahrnehmen (G. Ostermann, Ricerche fisiologiche e tossologiche sulle Vorticelle. Arch. di Fisiol., Vol. 1, 1903, p. 1—35), während die Absorption von Säuren in Lösungen von nur wenig unter 0,0001 n Stärke nicht nachweisbar ist. An Paramäcien sind jedoch so feine Beobachtungen, wie sie mit Strychnin angestellt werden können, nicht angängig, da einerseits eine Spezifizität der Reaktion fehlt, andererseits es nicht gut möglich ist, die Konzentration von extrem verdünnten Säuren und alkalischen Lösungen für längere Zeiträume unverändert zu halten.

denen Cohnheims[1]) u. a., bei denen das betreffende Proteidmaterial anscheinend mit Säure und Alkali sozusagen gesättigt wurde. Die in dieser Arbeit vorgeführten Versuche erstreben eine Erläuterung der Vorgänge der Absorption von Säure und Base lediglich so weit, wie sich diese bis zum Eintritt des Todes des Protoplasmas geltend macht.

Im folgenden möge noch die Beschreibung einzelner Versuche angereiht werden.

Beschreibung der Versuche.

1. Versuch. Ein Flüssigkeitsquantum mit Paramäcien wurde auf den Boden eines Glasgefäßes gebracht; dieses wurde darauf sorgfältig mit destilliertem Wasser gefüllt, um möglichst eine Vermischung der Flüssigkeiten zu verhindern. Nach 2 Stunden wurden diejenigen Paramäcien, die durch das destillierte Wasser hindurch an die Oberfläche der Flüssigkeit gekommen waren, durch Abgießen entfernt und in frisches destilliertes Wasser gebracht, worin sie 18 Stunden lang verblieben. Nach Ablauf dieser Zeit schied man die sich lebhaft bewegenden Paramäcien durch Zentrifugieren und setzte sie in eine 9 ccm destilliertes Wasser enthaltende Röhre; 1 ccm 0,001 n-Salzsäure unter Zusatz einer geringen Menge Methylorange kam hinzu. Also enthielt diese Röhre *a* 10 ccm einer 0,0001 n Lösung Salzsäure. Daneben wurde mit 2 anderen Röhren, jede 10 ccm 0,0001 n Salzsäure enthaltend, in ähnlicher Weise verfahren; die eine (*b*) blieb ohne Zusatz von Paramäcien, die andere *c* erhielt etwa 30 Paramäcien von derselben Kultur wie *a*. Die Temperatur der Röhre betrug ungefähr 17° C. Das Volumen der in *a* gesetzten Paramäcien war nach dem Zentrifugieren annähernd 15 cmm, und da die Menge der in *a* befindlichen Salzsäure sich auf 0,0365 mg belief, so war das Verhältnis des ersteren zu der letzteren etwa 400 : 1.

Nach Verlauf von 10 Minuten waren in *c* alle Paramäcien, außer 5, bewegungslos. Darauf wurden 12 weitere Paramäcien aus *a* hinzugesetzt; sie verloren sämtlich nach Verlauf von 12 Minuten ihre Beweglichkeit.

Nach 20 Minuten war in Röhre *a*, deren rötliche Färbung wenig, jedoch deutlich abgeschwächt war, im Vergleich zu *b* und *c*, deren Färbungen gleich waren, etwa ein Drittel der Paramäcien beinahe oder ganz bewegungslos, während sich die übrigen mit verminderter Lebhaftigkeit bewegten. Die Flüssigkeit in *a*, welche die Paramäcien enthielt, wurde in eine andere Röhre a_1 gegossen, während den in Röhre *a* noch befindlichen bewegungslosen oder fast bewegungslosen Paramäcien 10 ccm destilliertes Wasser zugesetzt wurde. Die Paramäcien in *a* ließen jedoch kein Zeichen der Wiederherstellung erkennen; sie sanken schnell auf den Boden der Röhre, während eine geringe Anzahl ihre trägen Bewegungen beibehielt. In Röhre a_1 war nach weiteren 20 Minuten etwa die Hälfte der Paramäcien bewegungslos, während die übrigen

1) loc. cit.

sich träge bewegten. Nach Verlauf von 2 Stunden waren sämtliche Paramäcien in a_1 bewegungslos. Nun wurden a_1 30 frische Paramäcien zugesetzt. Diese behielten etwa eine halbe Stunde ihre Lebhaftigkeit; dann trat eine wahrnehmbare Verminderung der Beweglichkeit ein, und nach Verlauf von 5 Stunden waren sie sämtlich tot.

In diesem Versuche ließ sich kein Anzeichen eines Wiederauflebens der Paramäcien nach Verlust ihrer Beweglichkeit feststellen. Daß die Konzentration der Säure in *a* durch die große Menge von zugesetzten Paramäcien geschwächt war, ergibt sich erstens aus der Tatsche, daß die rote Färbung von *a* im Vergleich zu *c* matter geworden war, und zweitens aus der Verlängerung der Dauer, innerhalb welcher nachträglich zugesetzte Paramäcien getötet wurden.

2. Versuch. Der vorhergehende Versuch wurde wiederholt mit Paramäcien, welche nicht so lebhaft beweglich wie die vorigen waren; sie wurden der Säure im Verhältnis von annähernd 70 : 1 Teil zugesetzt, während die Versuchsbedingungen sonst dieselben blieben.

In Röhre *c* wurden die Paramäcien nach Verlauf von 15 Minuten bewegungslos; die Färbung dieser Röhre blieb dieselbe wie die von *b*. In Röhre *a*, deren Färbung blasser war als die von *b* und *c*, waren die meisten Paramäcien nach 15 Minuten bewegungslos, nur einige ließen träge Bewegungen erkennen und 5 waren lebhaft beweglich. Röhre *a* wurde nun zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgegossen und durch destilliertes Wasser ersetzt. Nach 35 Minuten zeigten einige der Paramäcien träge Bewegungen, aber die Mehrzahl blieb unbeweglich. Es erfolgte nach Einwirkung der Säure kein Wiederaufleben der Tiere. Bei Zusatz von etwa 100 Paramäcien zu der in *a* überstehenden Flüssigkeit ergab sich, daß nach 2 Stunden die meisten Paramäcien bewegungslos und nach 5 Stunden sämtliche Tiere tot waren.

3. Versuch. Wie in Versuch 1. Verhältnis der Paramäcien zur Säure annähernd 500 : 1.

In Röhre *c* waren die meisten Paramäcien nach 45 Minuten bewegungslos, doch fanden sich sogar noch nach 5 Stunden 13 lebendige Tiere vor; die übrigen, 60 an der Zahl, waren tot. In *a* stellte sich heraus, daß nach 5 Stunden mehr als ein Sechstel der Paramäcien am Leben war, und die übrigen entweder bewegungslos waren oder gelegentliche träge Bewegungen ausführten. Diese letzteren lagerten am Boden der Röhre oder hafteten an deren Seiten. Es ließ sich schwerlich mit Bestimmtheit ein Farbunterschied zwischen *a*, *b* und *c* feststellen, da eben die rote Färbung aller Röhrchen sehr schwach war.

Die Flüssigkeit in *a* nebst den darin sich bewegenden Paramäcien wurde nun (d. h. nach Verlauf von 5 Stunden) in eine andere Röhre a_1 abgegossen. Den in *a* am Boden und an den Seiten verbleibenden Paramäcien wurde destilliertes Wasser zugesetzt, mit dem Ergebnis, daß die anfangs bewegungslosen Organismen wieder beweglich wurden. Ihre Wiederherstellung war jedoch nicht vollkommen, denn nach 24 Stunden war ein Drittel bis die Hälfte derselben tot. Nach 1 Stunde wurde *a* ein Volumen Salzsäure zugesetzt, das gleich dem ursprünglich

vorhandenen war. Die Mehrzahl der Paramäcien wurde nach 30 Minuten bewegungslos. Aber es trat eine deutlich wahrnehmbare Wiederherstellung ein, wenn die Paramäcien durch Zentrifugieren ausgeschieden und mit destilliertem Wasser vermischt wurden; mehr als die Hälfte der Organismen zeigte zunehmende Bewegung und fand sich an der Oberfläche der Flüssigkeit zusammen, während die übrigen auf den Boden der Röhre sanken.

4. Versuch. Wie in Versuch 1, aber mit Schwefelsäure statt Salzsäure. Verhältnis der Paramäcien zur Säure 1000 : 1.

In Röhre *c* waren nach 20 Minuten alle Paramäcien bewegungslos. Die Färbung von *c* war ausgesprochen rötlich, während die von *a* ein blasses Rot, das ans Gelbliche grenzte, aufwies. Die Paramäcien in *a* waren anfangs sehr lebhaft. Nach 2 Stunden waren die meisten von ihnen bewegungslos, zeigten aber gelegentliche träge Bewegungen und hafteten gewöhnlich an der Wandung der Röhre, während einige auf den Boden derselben gesunken waren; die übrigen Paramäcien bewegten sich träge. Nach 24 Stunden befanden sich die Organismen in demselben Zustande. Nun wurde die Röhre zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgegossen und so viel Säure hinzugefügt, wie erforderlich ist, um 0,0003 n. Konzentration zu erzeugen. Nach Verlauf von $2^1/_2$ Stunden waren sämtliche Organismen bewegungslos. Die Paramäcien wurden dann in destilliertes Wasser gebracht, aber ein Wiederaufleben erfolgte nicht. Setzte man Paramäcien der überstehenden Flüssigkeit zu, so war keine tödliche Wirkung zu beobachten.

In diesem Versuche war die Lebhaftigkeit der Paramäcien unter dem Einfluß der Säure herabgesetzt, indem die Organismen ihre Beweglichkeit verloren, ohne jedoch zu sterben. Wurde die Stärke der Säure erhöht, so trat schnell der Tod ein.

Aus den obigen Versuchen läßt sich erkennen, daß, wenn Paramäcien in beschränktem Maße der Einwirkung von Säuren ausgesetzt werden, und dasselbe gilt für Alkalien, ein gewisser Grad von Wiederherstellung möglich ist, die jedoch immer nur einen Bruchteil der Organismen betrifft. Mehrere Beispiele einer derartigen Wiedererlangung der Beweglichkeit werden durch die in dem nachfolgenden Abschnitte dieser Arbeit aufgezeichneten Versuche veranschaulicht. In diesen wurde als Ergebnis einer Prüfung mittels Handlinse die Ansicht gewonnen, daß die Paramäcien, welche ganz bewegungslos waren und keine Galvanotaxis zeigten, tot waren; bei nachträglichem Unterbringen in destilliertem Wasser traten aber anfangs träge, später lebhafte Bewegungen wieder ein. Solche Vorgänge lassen sich jedoch nur mit Schwierigkeit absichtlich herbeiführen, da ein Wiederaufleben der Organismen häufig unterbleibt, wenn ihre Bewegungen einmal aufgehört haben oder auch nur merklich herabgesetzt sind. Ueberdies

folgt einer in dieser Weise stattfindenden Wiedererlangung der Beweglichkeit anscheinend innerhalb einiger Stunden der Tod, so daß eine derartig eintretende Wiederherstellung nicht als eine vollkommene betrachtet werden kann. Die toxische Wirkung von Säuren und Alkalien darf daher eigentlich nicht als eine reversible (d. h. rückgängig zu machende) angesehen werden, obwohl unvollkommene Wiederherstellung bei einem Bruchteil der Paramäcien zu stande kommt. Nicht allein bietet die Beobachtung der Wirkung von Säuren und Alkalien erhebliche Schwierigkeiten wegen des Mangels an Spezifizität in der Reaktion der Paramäcien, deren Grad bei den verschiedenen Individuen derselben Kultur variiert, und welche selbst nur in einer Störnng der Bewegung mit darauf folgendem Tode besteht, sondern es ist außerdem die Entscheidung der Frage, ob ein Prozeß ein reversibler sei, durch die Möglichkeit höchst verwickelt, daß die Aufhebung der Beweglichkeit teilweise eine niederschlagende Wirkung ist. Daß es sich gewöhnlich nicht so verhält, läßt sich einmal aus dem häufigen Vorkommen der Fälle, daß auf eine solche Bewegungsstörung der Tod folgt, und dann aus der Schwierigkeit schließen, mit welcher der Nachweis selbst einer unvollkommenen Wiederherstellung gelingt. Inwiefern bei der Verminderung der Bewegungen der Paramäcien die Hemmung beteiligt ist, läßt sich nicht feststellen, da es nicht möglich ist, eine Scheidung der toxischen Wirkung von der niederschlagenden vorzunehmen.

Die sich aus der Einwirkung von Säuren und Alkalien auf Paramäcien ergebende chemische Veränderung ist eine deutlich ausgesprochene, da eine eigentliche Reversion jedenfalls nicht leicht, wenn überhaupt, nachweisbar ist. Die große Schnelligkeit, mit welcher die Konzentration aus einer tödlichen in eine nicht nachweisbar schädliche übergeht, darf man nicht an und für sich als einen Hinweis auffassen, daß das Protoplasma in ein leicht zersetzliches Produkt umgewandelt sei, welches durch Herabsetzung der Konzentration des umgebenden Mediums reversibel ist, denn im allgemeinen ist die Reaktionsgeschwindigkeit anfangs sehr groß und wird dann langsam; nnd so kann es begreiflicherweise geschehen, daß die tödliche Konzentration annähernd mit dem Maximalgrade der Konzentrationsveränderung zusammenfällt. Leider läßt sich die Veränderung der Zusammensetzung des Protoplasmas, welche die Einwirkung von Säuren und Alkalien zur Folge hat, nicht quantitativ bestimmen, und es lassen sich daher die Konstanten des Reaktionsgrades nicht feststellen; ebensowenig kann eine Entscheidung der Frage, ob die in den Tabellen 1 und 2 veranschaulichte scharfe Begrenzung der töd-

lichen Konzentration von Säuren und Basen auf einen schwachen, d. h. reversiblen, chemischen Prozeß hindeutet oder ob diese lediglich dem Geschwindigkeitswechsel der Reaktion zuzuschreiben ist, der an diesem Punkte gerade sehr groß ist, von diesem Standpunkt aus getroffen werden.

Dritte Versuchsreihe. Die bei Gegenwart von Paramäcien sich einstellende Konzentrationsverminderung saurer und alkalischer Lösungen wird mit Hilfe einer Methode, die von den beiden vorhergehenden einige Vorteile voraus hat, festgestellt. Wenn man sich zwei Lösungen von Salzsäure in einer Konzentration von 0,0001 n herstellt und in einer dieser Lösungen sorgfältig vorher gewaschene Paramäcien 15 Minuten bis 2 Stunden lang aufbewahrt und sie dann durch Zentrifugieren entfernt, so stellt sich heraus, daß, auf Zusatz einer gleichen Menge einer schwachen Lösung Methylorange zu jeder Flüssigkeit, die einfache Säurelösung eine rote Färbung gibt, während die Lösung, in welcher die Paramäcien sich befanden, einen Orangeton aufweist und nicht eher rot wird, bis noch eine gewisse Quantität Salzsäure zugefügt wird. Man gelangt zu demselben Resultat, ganz gleich, ob die Paramäcien durch die Säurelösung getötet werden oder ob sie am Leben bleiben. Wenn man, anstatt die die Paramäcien noch enthaltende Flüssigkeit mit Säure zu versetzen, dieser Flüssigkeit erst nach Entfernung der Tiere (durch Zentrifugieren) Säure zufügt, so läßt sich bei Zusatz von Methylorange kein Anzeichen einer Konzentrationsverminderung entdecken. Diese Angabe trifft jedoch nur zu für den Fall, daß die Paramäcien in der Flüssigkeit nicht länger als 2 Stunden verblieben. Nach Verlauf von 24 Stunden ist zuweilen keine Veränderung zu konstatieren; manchmal findet dagegen eine auffallende Reduktion der Säure statt. Vielleicht darf man die Inkonstanz der Resultate auf die wechselnde Menge von Bakterien aller Art zurückführen, die sich in den die Paramäcien beherbergenden Flüssigkeiten nach Verlauf längerer Zeiträume einstellen.

Diese Beobachtungen sind an Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure zu machen. Schwächere Säuren bewirken zu geringe Veränderung der Färbung des Methylorange und sind daher nicht zweckdienlich. Wenn die Hydroxyde von Natrium, Kalium, Lithium, Baryum, Strontium und Calcium an Stelle der Säuren Verwendung finden und Phenolphthalein als Indikator benutzt wird, so ist eine ähnliche Verminderung der Alkalinität, allerdings mit gewisser Schwierigkeit, nachweisbar, wenn die benutzten Konzentrationen die in Tabelle 2 gegebenen sind. Bei Versuchen mit Basen hat man zu bedenken,

daß die Paramäcien beständig Kohlensäure erzeugen. Es ist mithin festzustellen, daß die Verminderung der Alkalinität direkt durch die Paramäcien selber veranlaßt wird und jene nicht der CO_2-Produktion zuzuschreiben ist.

Zu diesem Zwecke stellte ich Versuche behufs Bestimmung der Kohlendioxydproduktion von Paramäcien an. Ich gelangte zu dem Ergebnis, daß die von den Paramäcien produzierte Kohlensäure nur so lange einen zu vernachlässigenden Bruchteil der vorhandenen Base neutralisiert, als die Tiere nicht über eine halbe Stunde hinaus in der Flüssigkeit verbleiben und auf 20 ccm der letzteren nicht mehr als 20 cmm Tiere kommen. Wo man in Versuchen als Indikator Phenolphthalein benutzt, kann man nicht mit schwachen Basen wie Ammoniak arbeiten, da sich kein scharfer Farbenwechsel vollzieht. Der Plan, diesen Versuchen einen quantitativen Charakter zu verleihen dadurch, daß ich Säure und Alkali zusetzte, bis die saure oder alkalische Lösung, in welcher sich die Paramäcien befanden, dieselbe Färbung annahm wie jene, welche durchweg frei von Paramäcien war, erwies sich mir leider als erfolglos, einmal wegen der schwachen Färbung des Methylorange in saurer Lösung von 0,0001 n Konzentration und dann wegen der sich daran anschließenden Schwierigkeit, die Farben übereinstimmend zu bekommen; auf der anderen Seite stellte sich bei Verwendung von Phenolphthalein in der Veränderlichkeit der Rotfärbung ein schwieriges Hindernis entgegen. Die Versuche wurden daher, nach verschiedenen vergeblichen Bemühungen, zuverlässige Resultate zu erzielen, aufgegeben.

Bis jetzt ist also die Konzentrationsverminderung saurer und alkalischer Lösungen in Gegenwart von Paramäcien nur qualitativ nachgewiesen worden. Um so mehr stellt eine quantitative Bestimmung der einer Lösung durch Paramäcien entzogenen Säuremenge erfolgreiche Resultate in Aussicht, insbesondere in Hinsicht auf die Bestätigung und Ausdehnung der bezüglich der tödlichen Konzentrationen gezogenen Schlüsse, wie sie im vorhergehenden Abschnitt dieser Arbeit ausgesprochen sind. Es ist besonders wünschenswert, die Konzentration saurer und alkalischer Lösungen eingehender zu studieren während jenes Zeitraumes, bis zu welchem der Tod der Paramäcien Platz greift, d. h. bis zu der Zeit, wo das Zellenprotoplasma zu leben aufhört. Ferner steht zu wünschen, die Bestimmung der Konzentrationsverminderung von Säuren auf die schwächeren Säuren auszudehnen, denn für den Fall der Benutzung der letzteren trifft die oben angegebene Erklärung nicht zu.

Der schließlich von mir eingeschlagene Weg richtete sich auf die Bestimmung der Leitfähigkeitsverminderung, die sich in sauren und alkalischen Lösungen nach Hinzufügen von Paramäcien einstellt.

Schätzung der durch die Einwirkung lebender Paramäcien einer Lösung entzogenen Menge von Säure und Base mittels Bestimmung der relativen Leitfähigkeit.

Diese Methode beruht auf dem Prinzip, daß in einem galvanischen Stromkreise die Leitfähigkeit einer gegebenen Flüssigkeit von der Ionenkonzentration der Flüssigkeit abhängt und daß, wenn die elektromotorische Kraft und der äußere Widerstand, der im Vergleich zu dem der Flüssigkeit vernachlässigt werden darf, konstant bleiben, jede Veränderung der Stromstärke sich durch eine entsprechende, direkt proportionale Veränderung der Ionenkonzentration kundgibt, so daß die erstere als Maß für die letztere gesetzt werden kann. Diese Verhältnisse lassen sich zum Ausdruck bringen durch die Formeln

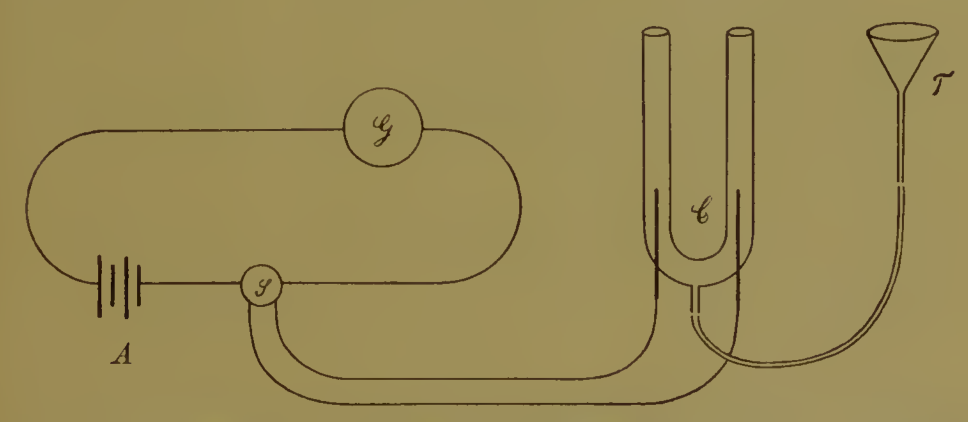
$$\mathrm{i} = \frac{\mathrm{E}}{\mathrm{W} + \mathrm{w}}, \text{ und } \mathrm{K} = \frac{\mathrm{I}}{\mathrm{W}} = \eta\alpha\,(\mathrm{u} + \mathrm{v})\,\mathrm{F}$$

in denen i die durch den Stromkreis gehende Stromstärke darstellt; E ist die angewandte elektromotorische Kraft; W der Widerstand der Flüssigkeit und w derjenige des übrigen Stromkreises, der im Vergleich zu dem ersteren gering ist und ohne bemerkenswerten Fehler außer acht gelassen werden kann; K ist die Leitfähigkeit der Flüssigkeit; η ist die Anzahl von Grammäquivalenten des Elektrolyten (hier Säure oder Base) pro Volumeinheit; α ist der Dissociationskoeffizient; u und v stellen die Geschwindigkeit des Kations resp. Anions dar; F die elektrische Ladung pro Grammion.

Der benutzte Apparat ist in der Figur auf p. 463 veranschaulicht. Er besteht aus einem **U**-förmigen Glasrohr *C*, das zwei Platinelektroden von 4 cm zu 2,4 cm enthält, deren Drähte durch die Wand der Röhre gehen. Der innere Durchmesser der **U**-Röhre beträgt 1,2 cm. Am Boden von *C* befindet sich ein mittels Gummischlauches an den Trichter *T* angeschlossenes Verbindungsrohr. Dieser Trichter kann je nach Wunsch gehoben und gesenkt werden; durch ihn wird die Flüssigkeit, deren Leitfähigkeit bestimmt werden soll, in *C* geleitet. *A* ist ein Accumulator, von dem aus der Strom zu der Wippe *S* übergeht. Das Galvanometer *G* ist in den Stromkreis eingeschlossen zwischen dem Accumulator *A* und dem Schlüssel *S*. Von dem

letzteren gehen Drähte nach der U-Röhre *C* und schließen so die Stromleitung.

Der Widerstand der U-Röhre, die eine Kapazität von 0,18 hatte, war bei einer Füllung mit 0,0001 n Salzsäure bei 15° C wenig über 130000 Ohm. Der Widerstand der übrigen Stromleitung war unter 100 Ohm. Der Accumulator enthielt 18 Elemente (EMK ungefähr 36 Volt), von denen in den einzelnen Versuchen 12 oder mehr, je nach Bedarf, benutzt wurden. Das Galvanometer war in Milliampèren bis hinauf zu 5 an jeder Seite des Nullpunktes geteilt.



A Accumulator. *G* Galvanometer. *S* Schlüssel zum Schließen des Stromes in beiden Richtungen. *C* das die Platinelektroden enthaltende Glasgefäß. *T* Trichter.

Bei Anwendung des Apparates [1]) sind mehrere Einzelheiten zu beachten. Für einen Versuch wird zuerst die Röhre *C* bis zu einer bestimmten Höhe mit der zu prüfenden Flüssigkeit gefüllt, welch letztere durch den Trichter *T* eingelassen wird; gleichzeitig wird die Temperatur des Zimmers und der Flüssigkeit notiert. Darauf wird der Stromkreis geschlossen und die Galvanometerablesung vermerkt. Der Strom wird nun umgekehrt, die Galvanometerablesung abermals gemacht und der Mittelwert der beiden Beobachtungen aufgezeichnet. Hiervon muß der Ausschlag des Galvanometers, der zu stande kommt, wenn die Röhre *C* mit destilliertem Wasser gefüllt wird, subtrahiert werden. Die für eine Doppelablesung erforderliche Zeit betrug gewöhnlich 6 Sekunden. Will man die Konzentrationsverminderung, die bis zum Eintritt des Todes der in eine saure oder alkalische Lösung gesetzten Paramäcien erfolgt, feststellen, so genügen zwei

1) Diese Methode der Bestimmung der relativen Leitfähigkeit von Paramäcien enthaltenden Lösungen hat gegen die der Bestimmung der absoluten Leitfähigkeit mittels eines Induktoriums und Telephons den Vorzug, daß sie rasch von statten geht.

Beobachtungen, und zwar wird die eine sogleich, nachdem die Paramäcien mit der Säure oder dem Alkali in Berührung kommen, gemacht, die andere, sobald die Paramäcien tot sind. Es ist wohl selbstverständlich, daß man unter solchen Umständen in der durch den Strom erzeugten Elektrolyse kaum eine Fehlerquelle zu befürchten hat. Um diese Gefahr hintanzuhalten, wurden die Elektroden mit Platinschwamm überzogen; *C* wurde, wenn außer Gebrauch, mit destilliertem Wasser gefüllt gehalten. Vor Einführung einer sauren oder alkalischen Flüssigkeit in *C* wurde aus ihm das destillierte Wasser bis auf den letzten Tropfen abgelassen; die einzuführende Flüssigkeitsmenge muß im Vergleich zu der an der Wandung der leeren Röhre haften bleibenden Flüssigkeitsmenge groß sein. Wenn die zu prüfende Flüssigkeit während der ganzen Beobachtungszeit in *C* verbleibt, so ist die Gefahr einer Konzentrationsveränderung auf ein Minimum zurückgedrängt. Es mag hier darauf hingewiesen werden, daß es bei dieser Methode wesentlich darauf ankommt, daß alle Glasapparate einige Stunden vor dem Gebrauch mit destilliertem Wasser gefüllt werden, und daß man sie vor Einführung einer sauren oder alkalischen Lösung von schwacher Konzentration nicht erst mit einem Gläsertuch abtrocknet. Auf andere praktische Einzelheiten soll weiter unten hingewiesen werden. Der Durchgang des Stromes erzeugt eine Galvanotaxis, wirkt aber auf die Paramäcien nicht weiter schädlich ein.

Die Berechnung der sich ergebenden Konzentrationsabnahme läßt sich am besten an einem wirklichen Beispiel vor Augen führen.

In Versuch 1, Tabelle 7, betrugen die Ablesungen am Anfange und am Ende der Beobachtungszeit (30 Min.) $\frac{3{,}10 + 3{,}50}{2} = 3{,}30$ resp. $\frac{2{,}64 + 3{,}04}{2} = 2{,}84$, während der Ausschlag nach Anwendung von destilliertem Wasser $\frac{0{,}20 + 0{,}60}{2} = 0{,}40$ war. Die korrigierten Ablesungen sind mithin 2,90 resp. 2,44, und die Differenz beträgt 0,46. Ein Kontrollversuch mit 0,0001 n Salzsäurelösung, die mit destilliertem Wasser hergestellt war, worin die für den Versuch bestimmten Paramäcien 45 Minuten lang aufbewahrt blieben, ergab eine mittlere Ablesung von 3,00 am Anfange und 2,88 am Ende der Versuchszeit, wobei die Differenz zwischen den beiden Ablesungen 0,12 betrug. Die Konzentrationsabnahme ist mithin

$$\frac{0{,}46 - 0{,}12}{2{,}9} \cdot 100 = 11{,}5 \text{ Proz.}$$

Tabelle 7.

Untersuchung bezüglich der Wirkung von Säuren auf Paramäcien durch Feststellung der relativen Leitfähigkeit.

Versuch	T	Menge der angewandten Säure	Anzahl der zugesetzten Paramäcien	Ausschlag des Galvanometers	Zustand der Paramäcien
1	12° C	20 ccm von 0,0002 n HCl	36 000	gleich nach dem Mischen der Paramäcien mit der Säure 2,9 nach Verlauf von 15 Min. 2,6 " " " 2 Std. 2,3 " " " 24 " 2,2	tot n. 30 Min.
2	13,5° C	30 ccm von 0,0001 n H_2SO_4	12 000	gleich nach dem Mischen der Paramäcien mit der Säure 3,0 nach Verlauf von 15 Min. 2,9 " " " 2 Std. 2,6 " " " 24 " 2,2	tot n. 23 Min.
3	15° C	20 ccm von 0,0003 n COOH CHOH CHOH COOH	40 000	gleich nach dem Mischen der Paramäcien mit der Säure 9,9 nach Verlauf von 15 Min. 9,3	tot nach 4—6 Min.
4	15° C	30 ccm von 0,0001 n HCOOH	15 000	gleich nach dem Mischen der Paramäcien mit der Säure 1,4 nach Verlauf von 15 Min. 1,2 " " " 2 Std. 1,1 " " " 24 " 1,0	lebend nach Verlauf von 24 Std.
5	19,5° C	16 ccm von 0,00015 n CH_3COOH	33 500	gleich nach dem Mischen der Paramäcien mit der Säure 3,5 nach Verlauf von 10 Min. 3,2	92 % lebend am Ende des Versuches.
6	16° C	20 ccm von 0,225 n H_3BO_3	22 000	gleich nach dem Mischen der Paramäcien mit der Säure 1,6 nach Verlauf von 15 Min. 1,6 " " " 2 Std. 1,6	tot n. 15 Min.
7	12° C	30 ccm von 0,3 n HCN	15 000	gleich nach dem Mischen der Paramäcien mit der Säure 1,1 nach Verlauf von 15 Min. 1,2 " " " 2 Std. 1,5	tot n. 45 Min.

der zu Anfang des Versuches 3 (Tabelle 10) in *C* ursprünglich vorhandenen Säure.

Als Vorversuche wurden die in den Tabellen 7 und 8 aufgezeichneten Beobachtungen angestellt. In Tabelle 7 ist die Verminderung der Leitfähigkeit von Paramäcien enthaltenden Säurelösungen für Zeiträume von 2—24 Stunden bestimmt worden, die Organismen starben dabei nämlich gewöhnlich nach Verlauf von 4—45 Minuten. In Tabelle 8 ist zur Vergleichung auch die während desselben Zeitraumes in Kontrolllösungen auftretende Veränderung der Leitfähigkeit

festgestellt. Die letztere wurde beobachtet in Säurelösungen von derselben Stärke wie die ersteren und mit destilliertem Wasser hergestellt, in welchem die Paramäcien 2 Stunden lang aufbewahrt und woraus sie dann durch Zentrifugieren entfernt waren, so daß nur solche lösliche Stoffe, welche die Paramäcien während dieser Zeit ausgeschieden haben, nebst Kolpidien und einer geringen Menge schwebenden Satzes, der teilweise jedenfalls von dem Zerfall der Paramäcien herrührt, zurückblieben. Ohne diese Kontrollversuche würde es sicherlich unmöglich sein, festzustellen, welcher Anteil an

Tabelle 8.

Abnahme der Leitfähigkeit von verdünnten Säuren (zwecks Vergleichung mit Tabelle 7).

Versuch	Konzentration der Säurelösung	Ausschlag des Galvanometers	
1a	HCl 0,0001 n	gleich nach dem Mischen	3,0
		nach Verlauf von 15 Min.	2,9
		„ „ „ 2 Std.	2,7
		„ „ „ 24 „	2,7
2a	H_2SO_4 0,0001 n	gleich nach dem Mischen	3,0
		nach Verlauf von 15 Min.	3,0
		„ „ „ 2 Std.	2,8
		„ „ „ 24 „	2,5
3a	CHOH.COOH / CHOH.COOH 0,0003 n	gleich nach dem Mischen	9,6
		nach Verlauf von 15 Min.	9,4
4a	HCOOH 0,00007 n	gleich nach dem Mischen	1,5
		nach Verlauf von 15 Min.	1,4
		„ „ „ 2 Std.	1,2
		„ „ „ 24 „	1,1
5a	CH_3.COOH 0,0001 n	gleich nach dem Mischen	3,6
		nach Verlauf von 15 Min.	3,6
6a	H_3BO_3 0,225 n	gleich nach dem Mischen	1,9
		nach Verlauf von 2 Std.	1,9
7a	HCN 0,3 n	gleich nach dem Mischen	1,1
		nach Verlauf von 15 Min.	1,1
		„ „ „ 2 Std.	1,5

dem Leitfähigkeitsverluste in Paramäcien enthaltenden Säurelösungen diesen Organismen selbst zuzuschreiben ist. Die Tabellen zeigen, daß bei Anwendung stark ionisierter Säuren eine Verminderung der Leitfähigkeit erfolgt sowohl bei Anwesenheit als auch bei Abwesenheit der Paramäcien, aber daß die Abnahme im ersteren Falle größer als im letzteren ist. Nach Ablauf von 2 Stunden unterliegt die Reduktion mancherlei Schwankungen; vielleicht hängt dies mit der in der Flüssigkeit auftretenden bakteriellen Entwickelung zusammen. Die

Versuche zeigen ferner, daß während der ersten 15 Minuten eine erhebliche Reduktion der Konzentration stattfindet, und daß die Konzentrationsabnahme nachher langsamer vor sich geht, wenn merklich dissociierte Säuren Verwendung finden (Versuche 1—5). Die nach dem Tode erfolgende Reduktion der Konzentration liegt jedoch außerhalb des Rahmens der vorliegenden Untersuchung und soll daher nicht weiter erörtert werden. Bei Verwendung von Säuren, die schwache Elektrolyte sind (Versuche 6, 6a, 7, 7a, Tabellen 7 und 8), läßt sich die absorptive Wirksamkeit von Paramäcien nicht deutlich genug vor Augen führen, da die Flüssigkeit entweder keine merkliche Veränderung der Leitfähigkeit erkennen läßt oder sogar eine Zunahme aufweist (Versuche 7 und 7a). Auf den letzteren Punkt werde ich später noch einmal zurückkommen.

Die obigen Vorversuche haben die Richtung gewiesen, welche bei der weiteren Untersuchung zu verfolgen ist und am vorteilhaftesten zum Ziele zu führen verspricht. Natürlich ist nur diejenige Konzentrationsreduktion in Betracht zu ziehen, die sich während des Lebens der Organismen abspielt, d. h. während der halben Stunde unmittelbar nach der Vermischung der Paramäcien mit der Säure. Ferner kommt es darauf an, daß die Abnahme der Leitfähigkeit in Paramäcien enthaltenden Säurelösungen so groß wie möglich und daß die Abnahme der Leitfähigkeit in den Kontrollversuchen relativ klein sei.

Den ersten Punkt erreicht man gewöhnlich durch sorgfältige Auswahl der zu verwendenden Paramäcien und durch zweckmäßige Versuchsanordnung, wobei die durch die Anwesenheit der Paramäcien hervorgerufene Konzentrationsverminderung relativ bedeutende Werte annimmt und die Säureabsorption von seiten der Organismen außer Frage gestellt wird. Um eine merkliche Konzentrationsabnahme bei Anwesenheit von Paramäcien zu erzielen, muß der Tod langsam eintreten. Sterben die Tiere sofort oder innerhalb 3 Minuten ab, so läßt sich eine Konzentrationsverminderung nicht mit Sicherheit [1]) erkennen. Eine kurze Ueberlegung lehrt, daß, wenn infolge relativ starker Konzentrationen der Tod eingetreten ist, die Konzentrations-

1) In den Fällen, wo dieser Umstand nicht einer hohen Säurekonzentration zuzuschreiben ist, die eine relativ geringe Abnahme der Leitfähigkeit herbeiführt, kann es vorkommen, daß, wenn der Tod schnell eintritt, die Wirkung der Säure oberflächlich die Cilien trifft und schnell Unbeweglichkeit zur Folge hat, während bei langsamer erfolgendem Tode die Säure auf tiefer gelegenes Cytoplasma reagiert und daher in größerer Menge verbraucht wird.

abnahme nur unbedeutend sein kann. Wenn also die niedrigste Konzentration, welche die Organismen in 25 Minuten zu töten vermag, 0,0001 n ist und die sich ergebende Reduktion der Konzentration 15 Proz. beträgt, so würde sich offenbar, wenn die 6fache ursprüngliche Konzentration benutzt würde, die Konzentrationsabnahme, vorausgesetzt, daß sie mit derselben Geschwindigkeit vor sich geht, auf nur ein Sechstel von 15 Proz., d. h. auf 2,5 Proz. belaufen, ein Wert, der innerhalb der Fehlergrenze liegt. In den meisten Versuchen in Tabelle 10 wurden mit bald mehr bald weniger Erfolg hochprozentige Reduktionen angestrebt, indem vorher die zum Abtöten einer unbedeutenden Zahl von Paramäcien innerhalb 20—30 Minuten nötige Konzentration festgestellt wurde und indem dann, nachdem der Prozentsatz der wahrscheinlich von den Paramäcien zu absorbierenden Säure bekannt war, dieselben in einer Menge zugesetzt wurden, welche voraussichtlich eine merkliche Konzentrationsabnahme veranlaßte. In dem eben angeführten Beispiel, in welchem sich die Reduktion einer Konzentration von 0,0001 n Säurelösung auf 15 Proz. belief, dürfte bei einem zweiten Versuche, in dem die Anzahl der Paramäcien verdoppelt und die Säurekonzentration um 15 Proz. erhöht wurde, eine Reduktion der Konzentration von $\frac{30 \times 100}{115} = 26$ Proz. zu erwarten sein. Trotz der bestehenden Schwierigkeit, die Säurekonzentration und die Anzahl von Paramäcien festzustellen, die zur Sicherung einer Maximalabnahme der Leitfähigkeit nötig sind, kann man doch in einer ansehnlichen Zahl von Versuchen eine bemerkenswerte Abnahme erzielen. In der Praxis stößt man bei dem Streben nach einer starken Leitfähigkeitsverminderung oft auf Schwierigkeiten, die sich von dem schädlichen Einflusse herleiten, den das Zentrifugieren auf die Paramäcien ausübt; dies muß notwendig etwas länger ausgedehnt werden, wenn es darauf ankommt, die genannten Tiere frei von Beimischungen von Kolpidien und sonstigen Satzteilchen zu erhalten. Wenn man nicht besonders Bedacht darauf nimmt, das Zentrifugieren so viel wie möglich einzuschränken, so werden die Paramäcien leicht dermaßen beschädigt, daß innerhalb weniger Stunden davon eine große Anzahl stirbt. Kommen derartig geschwächte Organismen in eine Säurelösung von 0,0001 n Konzentration, so erfolgt der Tod so schnell, daß eine beträchtliche Reduktion der Konzentration nicht stattfinden kann. Da verschiedene Kulturen von Paramäcien gegen schädigende Einflüsse auch verschiedene Widerstandskraft besitzen, so bringt das Zentrifugieren stets einen mehr oder weniger ungewissen Faktor mit sich. In einigen Versuchen war die

einer Lösung entzogene Menge von stark dissociierter Säure für eine anzustellende Messung zu gering; diese Tatsache läßt sich nicht etwa auf eine mangelhafte Richtigstellung der Säurekonzentration und der Anzahl von Paramäcien zurückführen. In den zu beschreibenden Versuchen findet man Beispiele hierfür.

Die Konzentrationserniedrigung in den Kontrollversuchen mit Säure hängt teilweise von der Menge des Satzes, der Kolpidien und des löslichen Materials in dem Waschwasser, womit letzteres hergestellt, und teilweise von dem Zustand des Glasapparates ab (*C* Fig. 1), in welchem die Flüssigkeit untergebracht ist. Gewöhnlich befinden sich unter den zum Versuche bestimmten Paramäcien einige Kolpidien; in solchen Fällen ist es ratsam, die in dem Waschwasser enthaltenen Kolpidien darin zu belassen, damit der Kontrollversuch jede durch diese Organismen [1]) etwa herbeigeführte Herabsetzung der Leitfähigkeit miteinschließt.

Tabelle 9.
Beispiele von verbesserten Galvanometerlesungen, aus in Tabelle 11 gegebenen Versuchen entnommen.

Nummer des Versuchs	Benutzte Säure	Differenz der Galvanometerlesungen am Anfang und Ende des Versuchs		
		Versuch mit Paramäcien	Kontrollversuch mit Waschwasser	Korrigierte Differenz
2	HCl 0,0001 n	—0,8	—0,30	—0,50
5	HNO_3 0,0003 n	—1,2	—0,30	—0,90
8	H_2SO_4 0,0001 n	0,00	—0,05	0.00
12	HCOOH 0,0001 n	—0,32	+0,10	—0,42
15	$CH_3.CHOH.COOH$ 0,0001 n	—0,40	—0,25	—0,15
17	COOH COOH 0,0001 n	—0,25	—0,15	—0,10
19	CHOH.COOH CHOH.COOH 0,0001 n	—0,50	—0,13	—0,37
21	H_3PO_4 0,0002 n	—0,70	0,00	—0,70
23	$COOH.CH_2$ $COOH.CH_2$ COH.COOH 0,0001 n	0,00	0,00	0,00
26	$CH_3.COOH$ 0,00015 n	—0,30	0,00	0,30

Der Einfluß von seiten des Glasapparates wird auf das geringste Maß beschränkt, wenn man den Apparat *C* mit Säure von derselben Konzentration, wie sie die zum Versuch verwendete hat, füllt und

1) Kolpidien, welche nicht so leicht wie Paramäcien durch Säuren und Alkalien getötet werden, absorbieren diese letzteren ebenfalls, obwohl anscheinend in geringerem Maße als Paramäcien. Wegen ihrer geringen Größe sind sie jedoch zu experimentellen Zwecken nicht so geeignet wie Paramäcien.

diese Säure erneuert, bis die Konzentrationsabnahme nach Verlauf von $^1/_2$ Stunde weniger als 2 Proz. der ursprünglich vorhandenen beträgt [1]. Bei Anwendung von Säure in höherer Konzentration kann eine geringe Steigerung der Konzentration eintreten, wenn eine schwächere Säure benutzt wird.

Um einen Begriff von dem relativen Umfange der durch die Kontrollversuche gegebenen Korrektionen zu gewähren, ist Tabelle 9 aufgestellt, welche der Tabelle 11 entnommene Beispiele enthält (es ist immer das zweite Glied jeder Gruppe von Säuren gewählt). Durch geeignete Anordnung der Versuchsbedingungen kann der Korrektionsfaktor auf weniger als 10 Proz. reduziert werden.

In Tabelle 10 ist eine Reihe von Beobachtungen bezüglich der von Paramäcien hervorgerufenen Konzentrationsveränderungen saurer Lösungen gegeben. Diese Versuche wurden mit 10 der Säuren angestellt, deren tödliche Konzentration in den Tabellen 1 und 3 veranschaulicht ist. Die Ausführung der Versuche geschah in der oben beschriebenen Weise, indem jede Beobachtung durch einen Kontrollversuch korrigiert wurde, welcher mit destilliertem Wasser angestellt wurde, worin die verwendeten Paramäcien $^1/_2$ Stunde bis 2 Stunden aufbewahrt blieben, ehe sie durch Zentrifugieren abgeschieden wurden. Die Beobachtungen wurden so lange fortgesetzt, bis die Paramäcien alle oder doch größtenteils tot waren; die jeweiligen Zeiträume, die zwischen 5 und 60 Minuten schwankten, sind in der 5. Spalte der Tabelle in Klammern angeführt. Die benutzte Säurekonzentration betrug 0,0001 n bis 0,0004 n, und die in den Apparat *C*, Fig. 1, eingelassene Menge, die in der 6. Spalte der Tabelle 10 in Klammern gesetzt ist, betrug gewöhnlich etwa 20 ccm. Die Paramäcien waren immer in relativ großer Menge vorhanden, indem ihr Gewicht 100- bis mehr als 1000mal so groß war wie das der verwendeten Säure. Die Versuchstemperatur ist in der dritten Spalte vermerkt.

Das erste Resultat dieser Versuche soll zeigen, daß bei Anwesenheit von Paramäcien Säure in meßbarer Menge verschwindet, und zwar während der Periode, die zwischen den Zeitpunkten der Beimischung der Säure und des Eintritts des Todes der meisten oder aller Tiere liegt. Die Konzentrationsverminderung der in Röhre *C*, Fig. 1, enthaltenen Säure wechselte von 3,0 Proz. in Versuch 22 bis 22,9 Proz. in Versuch 2; in Versuch 21 war die Menge der entzogenen Säure für eine Messung zu gering. Die Konzentrationsverminderung

1) Bei Waschwasser an Stelle von destilliertem Wasser ist die Konzentrationserniedrigung gewöhnlich größer.

Tabelle 10.

Die durch Paramäcien hervorgerufene Verminderung der Konzentration von Säurelösungen.

Versuch	Lebende Paramäcien am Ende des Versuchs	T	Säure	Konzentrationsveränderung während der Dauer des Versuchs	Die durch Paramäcien hervorgerufene Konzentrationsverminderung im Verhältnis von 50 000 in 100 ccm 0,0001 n Säurelösung berechnet	Aequivalente Absorption von HCl im Prozent des für den Versuch verwendeten Protoplasmas
1	9 Proz.	14,5°	HCl 0,0001 n	—10,0 Proz. (10′)	(36 000 in 20 ccm) — 2,8 Proz.	0,020 Proz.
2	7 „	14°	„ 0,0002 n	—22,9 „ (15′)	(78 000 „ 19 „) — 5,6 „	0,041 „
3	0 „	12°	„ 0,0002 n	—11,5 „ (30′)	(36 000 „ 30 „) — 9,6 „	0,070 „
4	10 „	14°	HNO_3 0,00015 n	— 5,2 „ (15′)	(66 000 „ 20 „) — 0,9 „	0,007 „
5	7 „	14,5°	„ 0,0001 n	— 7,0 „ (7′)	(95 000 „ 18 „) — 0,7 „	0,005 „
6	0 „	14°	„ 0,00015 n	—12,5 „ (16′)	(45 000 „ 21 „) — 4,4 „	0,032 „
7	0 „	14°	H_2SO_4 0,0003 n	—11,5 „ (8′)	(61 000 „ 20 „) — 5,7 „	0,042 „
8	0 „	13,5°	„ 0,0001 n	—10,0 „ (23′)	(12 000 „ 30 „) —12,5 „	0,091 „
9	4 „	17°	HCOOH 0,00015 n	— 9,0 „ (8′)	(130 000 „ 20 „) — 1,0 „	0,007 „
10	0 „	13,5°	„ 0,0001 n	—10,0 „ (25′)	(12 000 „ 30 „) —12,5 „	0,091 „
11	30 „	15°	CH_3.CHOH.COOH 0,0003 n	— 3,6 „ (10′)	(218 000 „ 20 „) — 0,5 „	0,004 „
12	16 „	20,5°	„ 0,0001 n	—12,0 „ (5′)	(41 000 „ 19 „) — 2,8 „	0,020 „
13	8 „	19,5°	„ 0,0001 n	—13,6 „ (11′)	(30 000 „ 19 „) — 4,3 „	0,031 „
14	7 „	14°	„ 0,0002 n	—10,0 „ (15′)	(95 000 „ 19 „) — 2,0 „	0,015 „
15	0 „	16,5°	COOH COOH 0,0001 n	—10,0 „ (7′)	(80 000 „ 21 „) — 2,6 „	0,019 „
16	30 „	20,5°	CHOH.COOH CHOH.COOH 0,0002 n	— 6,4 „ (5′)	(26 000 „ 21 „) — 2,6 „	0,019 „
17	0 „	12°	„ 0,0004 n	— 5,1 „ (7′)	(40 000 „ 20 „) — 5,1 „	0,037 „
18	0 „	12°	„ 0,0004 n	— 4,6 „ (20′)	(50 000 „ 21 „) — 3,9 „	0,029 „
19	45 „	15°	H_3PO_4 0,0003 n	—12,0 „ (12′)	(195 000 „ 20 „) — 1,9 „	0,014 „
20	21 „	15°	CHOH:CH_2 CHOH:CH_2 COH.COOH 0,0004 n	—12,2 „ (60′)	(45 000 „ 21 „) —11,4 „	0,083 „
21	0 „	19°	„ 0,0001 n	0,0 „ (20′)	(56 000 „ 20 „) 0,0 „	0,000 „
22	50 „	15°	CH_3.COOH 0,0003 n	— 3,0 „ (24′)	(59 000 „ 17 „) — 1,3 „	0,009 „

ist bemerkbar bei Verwendung sowohl der starken mineralischen Säuren, als auch der schwächeren Säuren, die sämtlich, mit Ausnahme von Phosphorsäure, organische Säuren sind. So hat denn der im vorhergehenden Abschnitt (p. 472) gewonnene Schluß direkte Bestätigung gefunden, daß die Wirkung von Säuren nicht katalytischen Charakters ist, sondern eine chemische Reaktion darstellt, bei welcher Säure aufgebraucht wird.

Die Säureentziehung geht anfangs schnell vor sich und setzt sich dann mit allmählich abnehmender Geschwindigkeit fort. Da dieser Punkt in Tabelle 10 nicht hervortritt, ist das folgende Beispiel (Versuch 15, Tabelle 10) gegeben. In diesem war die Konzentration bei Anwesenheit von Paramäcien, wie sie der Ausschlag des Galvanometers zeigte,

zu Anfang des Versuches	5,00	Differenz	— 0,62	in	7 Minuten
nach Verlauf von 7 Minuten	4,38	"	— 0,33	"	8 "
" " " 15 "	4,05	"	— 0,22	"	15 "
" " " 30 "	3,83	"	— 0,14	"	30 "
" " " 60 "	3,60				

Ein Kontrollversuch mit destilliertem Wasser, worin die Paramäcien 20 Minuten lang verblieben, bevor sie durch Zentrifugieren abgeschieden wurden (und das einige Kolpidien nebst geringem schwebenden Satz enthielt), ergab die folgenden Galvanometerausschläge:

zu Anfang des Versuches	5,12	Differenz	— 0,12	in	7 Minuten
nach Verlauf von 7 Minuten	5,00	"	— 0,16	"	8 "
" " " 15 "	4,84	"	— 0,34	"	15 "
" " " 30 "	4,50	"	— 0,32	"	30 "
" " " 60 "	3,18				

Daraus geht hervor, daß von der zu Anfang des Versuchs vorhandenen Säure aus der die Paramäcien enthaltenen Flüssigkeit während der ersten 7 Minuten $\frac{62}{5} = 12{,}4$ Proz., und während drei aufeinander folgender Zeiträume von 8, 15 und 30 Minuten bezw. 6,6 Proz., 4,4 Proz. und 2,8 Proz. verschwand. In den Kontrollversuchen betrugen die Mengen für dieselben Zeiträume 2,3 Proz., resp. 3,1 Proz., resp. 6,6 Proz. und 6,3 Proz. In allen Versuchen mit Paramäcien, in denen diese Dinge beobachtet wurden, zeigte sich beständig eine anfänglich schnelle, dann aber allmählich immer langsamer werdende Konzentrationsabnahme. In der Regel wiesen die Kontrollversuche eine ähnliche Konzentrationsabnahme auf, jedoch in weit geringerem Maßstabe.

Bis jetzt ist die von Paramäcien hervorgerufene Entziehung von Säure nur bezüglich des in jedem einzelnen Versuch wirklich verschwindenden Prozentsatzes erwogen worden. In den einzelnen Versuchen trifft man jedoch beträchtliche Differenzen an, die das eine Mal unvermeidlich, das andere Mal absichtlich hervorgerufen sind. So war, abgesehen von Temperaturveränderungen, die in der 3. Spalte von Tabelle 10 verzeichnet sind, die Menge der in den Apparat *C*, Fig. 1, eingeführten Säure (in der 6. Spalte in Klammern vermerkt) nicht immer dieselbe; die Konzentration der Säure (Spalte 4) wechselte in den verschiedenen Versuchen von 0,0001 n bis 0,0004 n, und schließlich stieg die verwendete Anzahl von Paramäcien von 12 000 auf über 200 000. Außerdem war der Zustand der Paramäcien in einigen Versuchen augenscheinlich nicht konstant; dies geht hervor einerseits aus der Verschiedenheit in der Lebhaftigkeit der Tiere vor ihrer Verwendung, andererseits aus der verschieden langen Zeitdauer, innerhalb welcher sie in Säurelösungen zu Grunde gehen. So oft ich auch versuchte, Gleichförmigkeit in dem Zustand der Paramäcien herzustellen, war dies Bestreben wegen der zu überwindenden bedeutenden experimentellen Schwierigkeiten doch nur in beschränktem Maße von Erfolg begleitet. In der vorliegenden Arbeit wird daher nur die Tatsache der Absorption von Säuren (und Alkalien) dargetan; auf den Versuch, den relativen Grad der Absorption verschiedener Säuren (und Basen) durch Paramäcien unter verschiedenen Versuchsbedingungen zu vergleichen, wird gänzlich verzichtet.

---

1) Am Ende jedes Versuches wurden die Paramäcien in 100 bis 500 ccm destillierten Wassers übertragen, aus dem nach gründlichem Schütteln (um eine gleichförmige Vermischung der Organismen zu erzielen) 1 ccm mittels Pipette entnommen und auf eine in Quadrate geteilte Glasplatte gebracht wurde, auf welcher die Paramäcien unterm Mikroskop gezählt wurden. Bei der Zählung wurden zunächst die toten Paramäcien berücksichtigt; dann wurde ein Tropfen starker Essigsäure auf die Platte gebracht. Sobald alle Paramäcien tot waren, stellte man eine Gesamtzählung an. Die erstere Zahl ermöglichte die Angabe des Prozentsatzes lebender Paramäcien. Die Gesamtzahl der Paramäcien auf der Glasplatte, multipliziert mit der Anzahl der Kubikcentimeter destillierten Wassers, das zum Verdünnen gebraucht war, ergibt die Anzahl der für den Versuch verwendeten Paramäcien. Gewöhnlich wurden 3 Bestimmungen gemacht und der Mittelwert genommen. Die Zählung der Paramäcien muß direkt nach Schluß des Versuchs vorgenommen werden. Paramäcien, die bei Beobachtung mittels Handlinse bewegungslos erscheinen, lassen nicht selten unter dem Mikroskop träge Bewegung erkennen. Bei vielen der angestellten Versuche starben die Paramäcien, obwohl sie am Schluß des Versuchs noch in lebhafter Bewegung waren, meistens im Laufe einiger Stunden.

Zur Veranschaulichung der angestellten Versuche in der gleichen Form ist in Spalte 6 der Tabelle 10 eine Berechnung des Grades angeführt, auf den sich die Konzentration von 100 ccm Säure einer 0,0001 n Stärke bei Anwesenheit von 50 000 Paramäcien vermindern würde, wenn deren Wirksamkeit in demselben Grade vor sich geht wie bei dem ursprünglichen Versuche. Es muß hier bemerkt werden, daß dies lediglich eine Weise ist, um die Resultate zu veranschaulichen; denn die Geschwindigkeit der Säureentziehung steht anscheinend durchaus in keinem einfachen Verhältnis zu der Menge und Konzentration der Säure und der Anzahl von Paramäcien.

Die berechneten Prozentsätze, die in der 6. Spalte der Tabelle 10 verzeichnet sind, weisen eine Säureentziehung auf, die innerhalb engerer Grenzen liegt (0 Proz. und — 12,5 Proz.) als jene der wirklichen Versuche (Spalte 5), und zeigen, daß eine große Verminderung der Leitfähigkeit nicht notwendigerweise einen hohen Grad von Säureabsorption von seiten der Paramäcien in sich schließt (vergl. Versuch 2 und 10). Bei Verwendung einer großen Anzahl von Paramäcien ist der Betrag der Säureentziehung im Verhältnis zu den benutzten Paramäcien notwendigerweise gering; so belief sich in den Versuchen 11, 19 und 9, in denen 218 000, resp. 195 000, resp. 190 000 Paramäcien zur Verwendung kamen, der berechnete Prozentsatz für die Verminderung der Leitfäbigkeit auf 0,5, 1,9 und 1,0. Das Gegenteil trifft jedoch wegen Abweichungen in dem Zustand der Paramäcien nicht immer zu, obgleich in den Versuchen 8 und 10, in denen Paramäcien derselben Kultur nacheinander in gleicher Zahl verwendet wurden, die berechneten Prozentsätze (wie auch die wirklichen Prozentsätze) hoch sind, nämlich 12,5 Proz.

Um einen klaren Begriff von dem Verhältnis zwischen dem Gewicht der verwendeten Paramäcien und dem der entzogenen Säure zu gewinnen, sind die in der letzten Spalte der Tabelle 10 gegebenen Prozentsätze berechnet worden. Dort ist die Menge der absorbierten Säure in Bezug auf die äquivalente Menge von Salzsäure angegeben; wären nämlich bezüglich der einzelnen Säuren die verschwindenden absoluten Mengen angegeben worden, so ließen die erhaltenen Prozentsätze wegen des verschiedenen Molekulargewichtes der Säuren fernerhin keine einfache Vergleichung mehr zu. Insofern als für den Versuch äquivalente Konzentration der Säuren in Frage kommt, ist der Prozentsatz der Absorption daher in Beziehung auf ein Glied der Serie gegeben, nämlich Salzsäure. Eine zweite Berechnungsweise würde sein, die Anzahl von Grammmolekülen der pro Kilogramm Protoplasma absorbierten Säure anzugeben, und dies erreicht man,

indem man die in der letzten Spalte von Tabelle 10 gegebenen Werte durch 3,65 dividiert oder jene in der 6. Spalte aufgeführten mit 0,002 multipliziert. Zur Bestimmung des Gewichts des verwendeten Protoplasmas ist eine Feststellung des Volumens der Paramäcien und ihres spezifischen Gewichts erforderlich.

Das letztere ist von JENSEN[1]) auf 1,25 bestimmt. Derselbe setzt die 1 mg wiegende Anzahl von Paramäcien auf 1140 fest. Meine eigenen Beobachtungen über das Volumen der Paramäcien, die mittels des Hämokrits angestellt sind, bestimmten die Durchschnittszahl der 1 mg wiegenden Paramäcien (indem jedes Mal verschiedene Kulturen gebraucht wurden) auf 1290[2]). Derartige Bestimmungen besitzen einen absoluten Wert jedoch nur für die wirklich verwendeten Paramäcien und haben bei allgemeiner Anwendung nur einen annähernden Wert. Bei Berechnung der Prozentsätze in der letzten Spalte von Tabelle 10 ist die Annahme gemacht worden, daß das Gewicht von 1000 Paramäcien 1 mg betrage, eine Zahl, die wahrscheinlich um ein geringes über das wirkliche Gewicht hinausgeht.

Die Menge der durch die Wirksamkeit von Paramäcien bis zu der Zeit, da alle oder die meisten Organismen tot sind, entzogenen Säure ist relativ sehr gering, indem sie, auf eine äquivalente Menge Salzsäure bezogen, zwischen 0,009 Proz. (abgesehen von Versuch 22) und 0,09 Proz. schwankt. Der letztere Prozentsatz[3]) ist beträchtlich niedriger als derjenige der Absorption von Salzsäure (5—16 Proz.), wie er von COHNHEIM[4]) für Protalbumose, Deuteroalbumose und Antipeptone bestimmt ist. Man muß jedoch in Betracht ziehen, daß in den in Tabelle 10 aufgeführten Beobachtungen kein Versuch gemacht wurde, die Maximalsäureentziehung durch das Protoplasma von Paramäcien festzustellen, sondern nur die bis zum Eintritt des Todes der Organismen entzogene Menge zu bestimmen; die vorliegende Untersuchung behandelt also das erste Stadium eines Prozesses, der in COHNHEIMS Versuchen viel weiter verfolgt ist.

---

1) Die absolute Kraft einer Flimmerzelle. PFLÜGERS Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 54, 1893, p. 537.

2) Bei dieser Berechnung ist JENSENS Bestimmung des spezifischen Gewichts von Paramaecium aurelia angewandt.

3) Vorausgesetzt, daß lebendige Paramäcien 75 Proz. Wasser enthalten, müssen bei getrockneten Paramäcien die in der 6. Spalte von Tabelle 10 gegebenen Prozentsätze mit 4 multipliziert werden und sind dann mit den von COHNHEIM gegebenen Prozentsätzen für Proteide vergleichbar.

4) loc. cit.

Tabelle 11.
Die durch lebende Paramäcien hervorgerufene Verminderung der Konzentration von Säurelösungen.

Versuch	Lebende Paramäcien am Ende des Versuchs	T	Säure	Konzentrationsveränderung während der Dauer des Versuchs	Die durch Paramäcien hervorgerufene Konzentrationsverminderung, im Verhältnis von 50 000 in 10 ccm 0,0001 n Säurelösung berechnet	Aequivalente Absorption von HCl im Prozent des für den Versuch verwendeten Protoplasmas
1	98 Proz.	19°	HCl 0,0001 n	— 5,8 Proz. (20′)	(162 000 in 20 ccm) — 0,4 Proz.	0,003 Proz.
2	92 „	24°	„ 0,00015 n	—12,3 „ (15′)	(140 000 „ 24 „) — 1,6 „	0,012 „
3	87 „	23°	„ 0,0001 n	—12,9 „ (3′)	(70 000 „ 19 „) — 1,8 „	0,013 „
4	71 „	19°	„ 0,0001 n	—16,8 „ (25′)	(92 000 „ 20 „) — 1,8 „	0,013 „
5	71 „	18°	„ 0,0001 n	0,0 „ (30′)	(117 000 „ 20 „) 0,0 „	0,000 „
6	95 „	15,5°	HNO_3 0,00013 n	— 6,7 „ (30′)	(150 000 „ 21 „) — 0,6 „	0,004 „
7	90 „	14°	„ 0,0003 n	—18,0 „ (7′)	(108 000 „ 20 „) — 5,0 „	0,036 „
8	70 „	14°	„ 0,0003 n	— 9,0 „ (8′)	(93 000 „ 20 „) — 2,9 „	0,021 „
9	100 „	16,5°	H_2SO_4 0,0001 n	— 5,0 „ (20′)	(58 000 „ 18 „) — 0,8 „	0,006 „
10	91 „	18°	„ 0,0001 n	0,0 „ (30′)	(127 000 „ 20 „) 0,0 „	0,000 „
11	90 „	16°	„ 0,0001 n	—11,3 „ (16′)	(55 000 „ 15 „) — 1,5 „	0,011 „
12	85 „	14°	„ 0,00015 n	—13,8 „ (8′)	(64 000 „ 20 „) — 3,2 „	0,023 „
13	98 „	16,5°	HCOOH 0,0001 n	— 5,7 „ (20′)	(18 000 „ 19 „) — 3,0 „	0,022 „
14	98 „	16,5°	„ 0,0001 n	— 6,0 „ (40′)	(46 000 „ 18,5 „) — 1,2 „	0,009 „
15	90 „	15,5°	„ 0,0001 n	—28,8 „ (15′)	(86 000 „ 18 „) — 3,0 „	0,022 „
16	90 „	15,5°	CH_3.CHOH.COOH 0,0002 n	— 3,0 „ (7′)	(65 000 „ 20 „) — 0,9 „	0,007 „
17	81 „	22,5°	„ 0,0001 n	—13,9 „ (10′)	(22 000 „ 18 „) — 5,7 „	0,042 „
18	99 „	19,5°	COOH COOH 0,0001 n	—18,8 „ (13′)	(53 000 „ 30 „) — 5,3 „	0,039 „
19	85 „	15,5°	„ 0,0001 n	— 9,7 „ (15′)	(68 000 „ 16 „) — 1,1 „	0,008 „
20	85 „	22,5°	CHOH.COOH CHOH.COOH 0,0001 n	— 1,0 „ (10′)	(30 000 „ 18 „) — 0,3 „	0,002 „
21	70 „	22,5°	„ 0,0001 n	— 5,0 „ (13′)	(36 000 „ 18 „) — 1,3 „	0,009 „
22	97 „	22,5°	H_3PO_4 0,0001 n	— 5,0 „ (15′)	(26 000 „ 19 „) — 1,8 „	0,013 „
23	93 „	19,5°	„ 0,0002 n	—23,4 „ (10′)	(40 000 „ 18 „) —10,5 „	0,077 „
24	97 „	19,5°	$COOH.CH_2$ $COOH.CH_2$ COH.COOH 0,0001 n	0,0 „ (20′)	(56 000 „ 20 „) 0,0 „	0,000 „
25	93 „	22,5°	„ 0,0001 n	0,0 „ (20′)	(28 000 „ 18 „) 0,0 „	0,000 „
26	73 „	20,5°	„ 0,0001 n	—14,8 „ (8′)	(72 000 „ 20 „) — 2,1 „	0,015 „
27	99 „	16,5°	CH_3.COOH 0,0001 n	— 5,7 „ (20′)	(61 000 „ 19 „) — 0,9 „	0,007 „
28	92 „	19,5°	„ 0,00015 n	—11,5 „ (10′)	(35 500 „ 16 „) — 4,1 „	0,030 „
29	90 „	14°	„ 0,00035 n	— 2,7 „ (29′)	(28 000 „ 11,5 „) — 1,9 „	0,014 „

Verwendet man tote Paramäcien zu dem Versuch, so tritt eine ähnliche Säureabsorption ein; die wechselnden Werte der Geschwindigkeit, mit welcher die Absorption in den wenigen über diesen Punkt angestellten Versuchen erfolgte, wichen nicht bemerkenswert von jenen ab, die man bei Verwendung lebendiger Paramäcien erzielte.

Es ergibt sich daher die Frage, ob nicht vielleicht die in Tabelle 10 auftretende Säureabsorption eine solche darstellt, die nach dem Tode des benutzten Protoplasmas erfolgt ist. Dagegen kann mit Recht eingewendet werden, daß die Absorption allenfalls teilweise nach dem Tode stattfinden kann, da Paramäcien Säuren gegenüber verschiedene Widerstandskraft äußern, indem einige früher zu Grunde gehen als andere. Um diesem Einwand zu begegnen, ist eine Reihe von Versuchen in Tabelle 11 gegeben, in denen die Tiere während der Dauer des Versuchs am Leben blieben oder doch nur in geringer Anzahl starben; es waren nämlich am Ende des Versuchs noch durchschnittlich 90 Proz. am Leben[1]). Diese Versuche sind in derselben Form veranschaulicht wie in Tabelle 10. Es ergibt sich, daß die wirklichen Mengen entzogener Säure (Spalte 5) innerhalb derselben Grenzen liegen wie in der vorhergehenden Tabelle, obgleich in nicht weniger als 4 Versuchen die entzogene Säuremenge für eine anzustellende Messung zu gering war[2]). Diese Beobachtungen mögen daher zur Feststellung der Tatsache dienen, daß lebende Paramäcien eine Säureentziehung aus Lösungen verursachen, die eine zwischen 0,0001 n und 0,0003 n wechselnde Konzentration besitzen. Es besteht eine Abweichung zwischen den beiden Tabellen in dem Umstande, daß, wenn beide nach der für den Versuch verwendeten Anzahl von Paramäcien (Spalte 6) umgeordnet werden, es sich zeigt, daß in Tabelle 10 der Grad der Säureentziehung augenscheinlich auf zwei Faktoren zurückzuführen ist, 1) die Anzahl der Organismen und 2) die Konzentration der Säure, während in Tabelle 11 kein solches Verhältnis klar zu Tage tritt. Dieser Unterschied ist der Tatsache zuzuschreiben, daß in der ersteren Tabelle der Versuch abgebrochen wurde, als die Paramäcien sich noch lebhaft bewegten. Die in der 6. Spalte von

1) Die Paramäcien starben gewöhnlich innerhalb weniger Stunden nach Schluß des Versuchs in beträchtlichen Mengen, so daß die Einwirkung der Säure augenscheinlich ernste Beschädigungen ihres Protoplasmas herbeigeführt hat.

2) Wenn dieses vorkommt, so findet bei Zufügung von mehr Säure bis zur doppelten, dreifachen oder vierfachen Konzentration eine Absorption in meßbarem Grade statt, wobei die Beweglichkeit der Paramäcien vermindert wird.

Tabelle 11 gegebenen berechneten Prozentsätze liegen innerhalb derselben Grenzen wie in der vorhergehenden Tabelle. Es besteht jedoch, wie zu erwarten ist, in den beiden Versuchsreihen ein Unterschied in der Durchschnittsmenge von entzogener Säure. So ist in Tabelle 10 der Durchschnittswert der entzogenen Säure 0,033 Proz., während in Tabelle 11 der Durchschnitt 0,020 Proz. beträgt.

Aus den in Tabelle 1 und 3 veranschaulichten Versuchen geht hervor, daß die Toxizität der verwendeten Säuren nicht dieselbe ist. Die in Tabelle 10 und der folgenden Tabelle aufgeführten Versuche, deren erster Gegenstand lediglich war, die Tatsache der Absorption von Säuren festzustellen, sind nicht daraufhin angelegt, dieses Verhältnis zu zeigen; auch ist noch keine genügende Anzahl von Versuchen gemacht worden, um diesen Punkt mittels Beobachtungen über relative Leitfähigkeit zu bestimmen.

Es ist wohlbekannt, daß die Produktion von Kohlendioxyd eine Eigenschaft lebenden Protoplasmas ist. Um festzustellen, wie weit diese die in den Tabellen 10 und 11 gegebenen Versuche beeinflußt, wurden einige Bestimmungen (die binnen kurzem veröffentlicht werden sollen) betreffs der Produktion von Kohlendioxyd durch lebendes Protoplasma ausgeführt, Bestimmungen, in denen die CO_2-Produktion pro Tag zwischen 1,3 Proz. und 5,3 Proz. bei Temperaturen zwischen 11° C und 17° C schwankte. Wenn nun 100000 Paramäcien, die annähernd 100 mg wiegen, 5,7 mg Kohlendioxyd in 24 Stunden erzeugen (Versuch 2, Tabelle 12), so würde die entsprechende Produktion bei derselben Geschwindigkeit in einer halben Stunde sich auf 0,118 mg belaufen. Indem man dieses Resultat auf Versuch 1, Tabelle 10, anwendet, in welchem 162000 Paramäcien in 20 ccm Flüssigkeit vorhanden waren, läßt sich leicht berechnen, daß die Produktion von Kohlendioxyd bei derselben Geschwindigkeit in einer halben Stunde (0,196 mg) die Konzentration der verwendeten Lösung bei einer 0,0002 n-Lösung Kohlensäure steigern würde. Die letztere Lösung, welche bis etwa 3,9 Proz. dissociiert ist, würde einer 0,000078 n-Lösung vollständig dissociierter Säure entsprechen, und da sie eine Konzentrationszunahme von 7,8 Proz. bewirkt, würde sie die Säureentziehung aus der Lösung in entsprechendem Grade verdecken, vorausgesetzt, daß kein Kohlendioxyd durch Verflüchtigung verloren geht. Die tatsächlich erzeugte Menge von Kohlendioxyd erscheint jedoch, nach den unten (p. 481) gegebenen Versuchen mit Basen zu urteilen, nur als ein Bruchteil dieses Betrages. In der Mehrzahl der Versuche wurden weniger als 60000 Paramäcien verwendet, und die Versuchsdauer betrug weniger als 15 Minuten, so daß der durch CO_2-

Produktion entstandene Fehler für Säuren in den meisten Versuchen der Tabellen 11 und 12 unbedeutend ist.

Eine Reihe ähnlicher Versuche wie die in den Tabellen 10 und 11 gegebenen wurde auch mit basischen Lösungen angestellt; die Resultate sind in Tabelle 12 niedergelegt. Da die Versuchsanordnung in jeder Hinsicht dieselbe war wie bei der Anwendung von Säuren, so braucht zu dem oben schon Gesagten nichts mehr hinzugefügt zu werden. Der Gang der Versuche erfährt jedoch bei Benutzung von Alkalien eine Beeinflussung durch einen neuen Faktor, nämlich durch die Absorption von CO_2 aus der Luft; und außerdem neigt die Wirkung der CO_2-Produktion von seiten der Organismen dazu, dort, wo Alkalien Verwendung finden, eine Abnahme der Leitfähigkeit herbeizuführen statt einer Zunahme, wie bei Benutzung von Säuren. Der erstere Faktor, der in seiner Ausdehnung veränderlich ist, da er sehr von dem Grade [1]) abhängt, wie die Flüssigkeit in *C*, Fig. 1, geschüttelt wird (um die Paramäcien gleichmäßig schwebend in der Flüssigkeit zu erhalten), macht die durch die Kontrollversuche gewonnene Korrektion größer als bei den Versuchen, die mit Säuren angestellt wurden. Trotzdem kann man die in den Kontrollversuchen sich einstellende Abnahme der Leitfähigkeit relativ klein gestalten im Vergleich zu jener, die bei Verwendung von Paramäcien eintritt, vorausgesetzt, daß die Versuchsbedingungen in geeigneter Weise angeordnet werden. Die Abnahme der Leitfähigkeit ist am größten bei Verwendung der Hydroxyde von Baryum, Strontium und Calcium (deren Karbonate unlöslich sind), und sie ist geringer, wenn die Hydroxyde von Kalium und Natrium [2]) Verwendung finden. Die Produktion von CO_2 durch die beim Versuch verwendeten Paramäcien, von der man annehmen sollte, daß sie den Gang der Versuche wesentlich beeinflußte, wenn große Mengen von Organismen zur Verwendung kommen, hat jedoch in der Tat keine solche Wirkung aufzuweisen. Wenn in Versuch 1, Tabelle 12, die benutzten 253000 Paramäcien Kohlendioxyd mit der Geschwindigkeit von 5,3 Proz. täglich erzeugten, dann würden in einer halben Stunde 0,297 mg produziert werden, die hinreichten, um 63,7 Proz. des vorhandenen Kaliumhydroxyds in Kaliumkarbonat zu verwandeln und so allein

1) Dies muß bei den Kontrollversuchen und bei den eigentlichen Versuchen mit Paramäcien in gleichem Maße ausgeführt werden.

2) Die Leitfähigkeit von K_2CO_3 in 0,001 n (äquivalenter) Lösung beträgt ungefähr ein Drittel von der KOH in derselben Stärke, und das Verhältnis für Na_2CO_3 und NaOH unter ähnlichen Bedingungen ist bei Zimmertemperatur ungefähr dasselbe.

aus dieser Ursache eine Abnahme der Leitfähigkeit hervorzurufen, die sich auf etwa 21 Proz. beliefe. In Wirklichkeit jedoch war die Gesamtabnahme viel kleiner; sie betrug nämlich im Kontrollversuch 5,9 Proz. und im wirklichen Versuch 10 Proz. Die Produktion von Kohlendioxyd scheint nach dem Zentrifugieren, wobei die Organismen gewöhnlich in dem sie umgebenden[1]) destillierten Wasser zu Boden sinken und dann eine Zeit lang unbeweglich bleiben, sehr niedrig zu sein. In der Mehrzahl der in Tabelle 12 vermerkten Versuche betrug die Anzahl der verwendeten Paramäcien weniger als 50000 und die Versuchsdauer weniger als 15 Minuten; in diesen Versuchen pflegte eine CO_2-Produktion von 5,3 Proz. täglich nur einen geringen Fehler zu verursachen, selbst wenn keine Korrektion gemacht wäre,

Im großen ganzen gleichen die mit Basen angestellten Versuche den mit Säuren ausgeführten. Die Versuche zeigen, daß, wie im Falle von Säuren, so auch bei Verwendung von Alkalien in ungefähr 0,001 n Konzentration ein Verschwinden eines Teiles der Base bei Vorhandensein von Paramäcien stattfindet, und zwar sowohl dann, wenn die Wirkung der Base bis zum Zeitpunkte des Absterbens der Organismen fortdauert, als auch dann, wenn sie aufgehoben wird, während die Organismen noch umherschwimmen[2]). Daher erbringen diese Versuche eine direkte Bestätigung des oben gefolgerten Schlusses, daß der Einfluß von Basen auf Paramäcien keine katalytische Wirkung ist, sondern auf einer chemischen Reaktion beruht, bei welcher Alkali aufgebraucht wird. Die Entziehung von Base betrug, in Prozenten ausgedrückt, 1—26 Proz. Das Verschwinden der Base geht anfangs schnell vor sich, gerade wie es bei den Säuren der Fall ist, und nimmt dann eine allmählich abnehmende Geschwindigkeit an, wie die folgende Illustration zeigt (Versuch 22), wobei die Galvanometerausschläge waren:

zu Anfang des Versuches	8,0		
nach Verlauf von 4 Minuten	7,2	Differenz — 0,8 in 4 Minuten	
„ „ „ 11 „	6,4	„ — 0,8 „ 7 „	
„ „ „ 21 „	5,8	„ — 0,6 „ 10 „	
„ „ „ 30 „	5,4	„ — 0,4 „ 9 „	

1) Indem man die überstehende Flüssigkeit, die Kolpidien enthält (die durch Zentrifugieren wenig beeinflußt werden), abgießt, kann man die Paramäcien in reinem Zustande gewinnen.

2) Die Bewegung der Organismen ist oft träge, und nicht selten stirbt die Mehrzahl derselben innerhalb einer Stunde nach Schluß des Versuches.

Tabelle 12.

Die durch Paramäcien hervorgerufene Verminderung der Konzentration von basischen Lösungen.

Versuch	Lebende Paramäcien am Ende des Versuches	T	Base		Konzentrationsveränderung während der Dauer des Versuches	Die durch Paramäcien hervorgerufene Konzentrationsverminderung im Verhältnis von 50000 in 100 ccm 0,001 n basischer Lösung		Aequivalente Absorption von KOH im Prozent des für den Versuch verwendeten Protoplasmas
1	99 Proz.	18°	KOH	0,001 n	— 4,1 Proz. (35′)	(253 000 in 20 ccm)	— 0,2 Proz.	0,02 Proz.
2	75 „	21,5°	„	0,0011 n	— 3,3 „ (15′)	(7 000 „ 20 „)	— 5,2 „	0,58 „
3	20 „	21°	„	0,00007 n	— 8,7 „ (10′)	(77 000 „ 20 „)	— 0,7 „	0,08 „
4	0 „	14°	„	0,002 n	—21,4 „ (15′)	(140 000 „ 20 „)	— 3,1 „	0,35 „
5	100 „	16,5°	NaOH	0,001 n	— 7,8 „ (20′)	(90 500 „ 20 „)	— 0,9 „	0,10 „
6	78 „	16°	„	0,001 n	—15,9 „ (10′)	(46 000 „ 18,5 „)	— 3,2 „	0,36 „
7	57 „	16°	„	0,001 n	—18,4 „ (12′)	(28 000 „ 17,5 „)	— 5,8 „	0,65 „
8	0 „	13°	„	0,003 n	— 7,5 „ (10′)	(160 000 „ 14 „)	— 1,0 „	0,11 „
9	100 „	19°	LiOH	0,001 n	— 2,7 „ (10′)	(9 100 „ 18 „)	— 2,7 „	0,32 „
10	94 „	15°	„	0,001 n	— 1,2 „ (30′)	(26 000 „ 18 „)	— 0,4 „	0,05 „
11	94 „	15°	„	0,001 n	— 4,8 „ (25′)	(113 000 „ 20 „)	— 0,4 „	0,05 „
12	97 „	19°	$Ca(OH)_2$	0,001 n	—14,5 „ (10′)	(26 000 „ 18 „)	— 5,0 „	0,56 „
13	88 „	18°	„	0,001 n	— 5,8 „ (16′)	(51 000 „ 19 „)	— 1,1 „	0,12 „
14	67 „	17,5°	„	0,0013 n	— 6,8 „ (5′)	(7 100 „ 16 „)	— 9,9 „	0,11 „
15	28 „	18°	„	0,0013 n	—11,6 „ (10′)	(11 000 „ 19 „)	—10,0 „	1,12 „
16	93 „	17,5°	$Sr(OH)_2$	0,0005 n	—12,5 „ (20′)	(8 600 „ 16 „)	— 5,8 „	0,65 „
17	91 „	19°	„	0,001 n	— 7,8 „ (10′)	(17 000 „ 17 „)	— 3,9 „	0,44 „
18	0 „	15°	„	0,001 n	— 7,3 „ (11′)	(60 000 „ 18 „)	— 1,1 „	0,12 „
19	51 „	19°	$Ba(OH)_2$	0,001 n	— 7,0 „ (10′)	(22 000 „ 17 „)	— 2,7 „	0,32 „
20	46 „	19°	„	0,001 n	— 7,5 „ (5′)	(15 000 „ 19 „)	— 4,7 „	0,53 „
21	28 „	13,5°	„	0,001 n	—10,0 „ (5′)	(37 500 „ 17 „)	— 2,3 „	0,26 „
22	28 „	21,5°	„	0,001 n	—26,3 „ (30′)	(147 000 „ 20 „)	— 1,8 „	0,21 „

während der Kontrollversuch einen niedrigeren Unterschied als gewöhnlich ergab:

zu Anfang des Versuches	14,4		
nach Verlauf von 13 Minuten	14,1	Differenz — 0,3 in 13 Minuten	
„ „ „ 26 „	13,9	„ — 0,2 „ 13 „	

Hinsichtlich der obwaltenden Bedingungen bestanden unter den einzelnen Versuchen mit Basen beträchtliche Abweichungen betreffs der Anzahl der verwendeten Paramäcien (in Klammern in Spalte 6, Tabelle 12, angeführt); diese stieg von 7000 auf 250000. Um den in Spalte 5, Tabelle 12, gegebenen Grad von Baseentziehung in einer Form hervortreten zu lassen, die eine bessere Vergleichung der verschiedenen Versuche gestattet, ist die entsprechende Entziehung von Base, die von 50000 Paramäcien in 100 ccm Base bei einer Konzentration von 0,001 n verursacht wird, für jeden Versuch in Spalte 6 berechnet. Die gefundenen Prozentsätze erreichen fast annähernd dieselbe obere Grenze, welche die Tabellen 10 und 11 erkennen lassen und die 10 Proz. beträgt. Wird die Absorption von Base durch Paramäcien in Bezug auf das entsprechende Gewicht von Kaliumhydroxyd, das bei Gegenwart von 100 Gewichtsteilen Paramäcien absorbiert wird, berechnet, so erhält man die in Spalte 7, Tabelle 12, veranschaulichten Prozentsätze. Will man die Entziehung von Base in Grammäquivalenten pro Kilogramm des Protoplasmas angeben, so muß man die letzteren Prozentsätze mit 0,18 multiplizieren oder die in der sechsten Spalte gegebenen Prozentsätze mit 0,02. Die berechnete Absorption von Kaliumhydroxyd durch Paramäcien liegt, wie ersichtlich, zwischen 0,11 Proz. und 1,1 Proz. Ordnet man die in Tabelle 12 gegebenen Versuche anders, und zwar nach der Zahl der verwendeten Paramäcien, so zeigt sich, daß der Prozentsatz der Baseabsorption im allgemeinen niedriger ist bei Benutzung großer Mengen von Organismen, und höher, wenn geringe Mengen Verwendung finden, daß jedoch Verschiedenheiten in der absorbierten Menge vorkommen, welche nicht als Begleiterscheinungen der Konzentrationsveränderung der Base oder der verschieden langen Versuchsdauer angesehen werden können und daher von Unterschieden in dem Zustande der Organismen herrühren müssen.

Daß die Entziehung von Base bei Lebzeiten der Paramäcien erfolgt, geht aus jenen Versuchen hervor, bei denen der Prozentsatz der am Schlusse des Versuches toten Paramäcien unbedeutend ist. Es muß daher als festgestellt erachtet werden, daß die Absorption von Base durch die Wirksamkeit lebendigen Protoplasmas zu stande kommt.

Die relative Toxizität der benutzten Basen ist aus Tabelle 12 nicht zu ersehen, da in dieser die betreffenden Versuche nicht zur Vornahme einer solchen Vergleichung angetan sind.

Vergleicht man Säuren und Basen in tödlicher Konzentration bezüglich des Grades ihrer Absorption durch Paramäcien, so ergibt sich, daß entsprechend dem Unterschied in tödlicher Konzentration ein Unterschied in den Mengen von Säure und Base besteht, die von lebenden Paramäcien absorbiert werden. Die in Tabelle 3 verzeichnete Durchschnittskonzentration der ersten zehn Säuren beträgt 0,00014 n, während die Durchschnittskonzentration der metallischen Alkalien, wie Tabelle 4 zeigt, sich auf 0,002 n stellt; hier verhält sich die letztere zur ersteren wie 14:1. Es ist schwer, Paramäcien hinsichtlich der von ihnen ausgeübten Absorption von Säure und Base zu vergleichen, wegen der Schwierigkeit, eine Sättigung in demselben Grade zu erreichen. Eine grobe Vergleichung läßt sich jedoch durch Gegenüberstellung der Prozentsätze von absorbierter Säure und Alkali anstellen. In Tabelle 10 ist der Durchschnitt von Spalte 7 0,033, in Tabelle 11 0,020, während in Tabelle 12 0,32 erreicht wird. Der Mittelwert der ersten beiden Tabellen verhält sich zur Durchschnittsmenge der dritten Tabelle wie 13:1. Wird die Anzahl Grammmoleküle von Base resp. Säure, die durch eine 1 kg wiegende Menge von Paramäcien absorbiert ist, verglichen, so ergibt sich das Verhältnis 6:1.

Die Beobachtungen bezüglich der Absorption von Säuren und Basen durch Paramäcien sind auf jene beschränkt worden, die einen hohen Grad von Ionisation besitzen. Die hier angewandte Methode hat sich nicht als erfolgreich bewährt bei Anwendung von Kohlen-, Karbol-. Bor- und Blausäure. Ammoniak und Anilin.

Die obigen Resultate stimmen mit früheren Beobachtungen bezüglich der Wirkung von Säuren und Basen auf Paramäcien überein[1]), in denen dargetan wurde, daß die Färbereaktion durch Säuren und Basen, die auf die lebenden Paramäcien einwirkten, nicht beeinträchtigt wird, und daß nur dann, wenn man die Wirkung eine Stufe weiter, über den Tod der Tiere hinaus, führte, die Färbereaktion eine Veränderung erfährt. Es zeigte sich ferner, daß dem Protoplasma von Paramäcien keine saure oder alkalische chemische Reaktion mitgeteilt wird, wenn man die Tiere Säuren und Alkalien von tödlicher Kon-

1) Die Reaktion des Protoplasmas in ihrem Verhältnis zur Chemotaxis. Zeitschr. f. allgem. Physiol., Bd. 4, 1904, p. 87—104.

zentration aussetzt, ein Resultat, das sich aus dem Umstand ergibt, daß eine chemische Umsetzung zwischen lebendem Protoplasma und Säuren und Alkalien stattfindet, bei welcher die letzteren aufgebraucht werden.

Zusammenfassung.

1) Für Paramaecium aurelia ist die tödliche Konzentration, und zwar Molekular- und Ionenkonzentration, von Alkalien viel größer als die von Säuren (Tabellen 1—4).

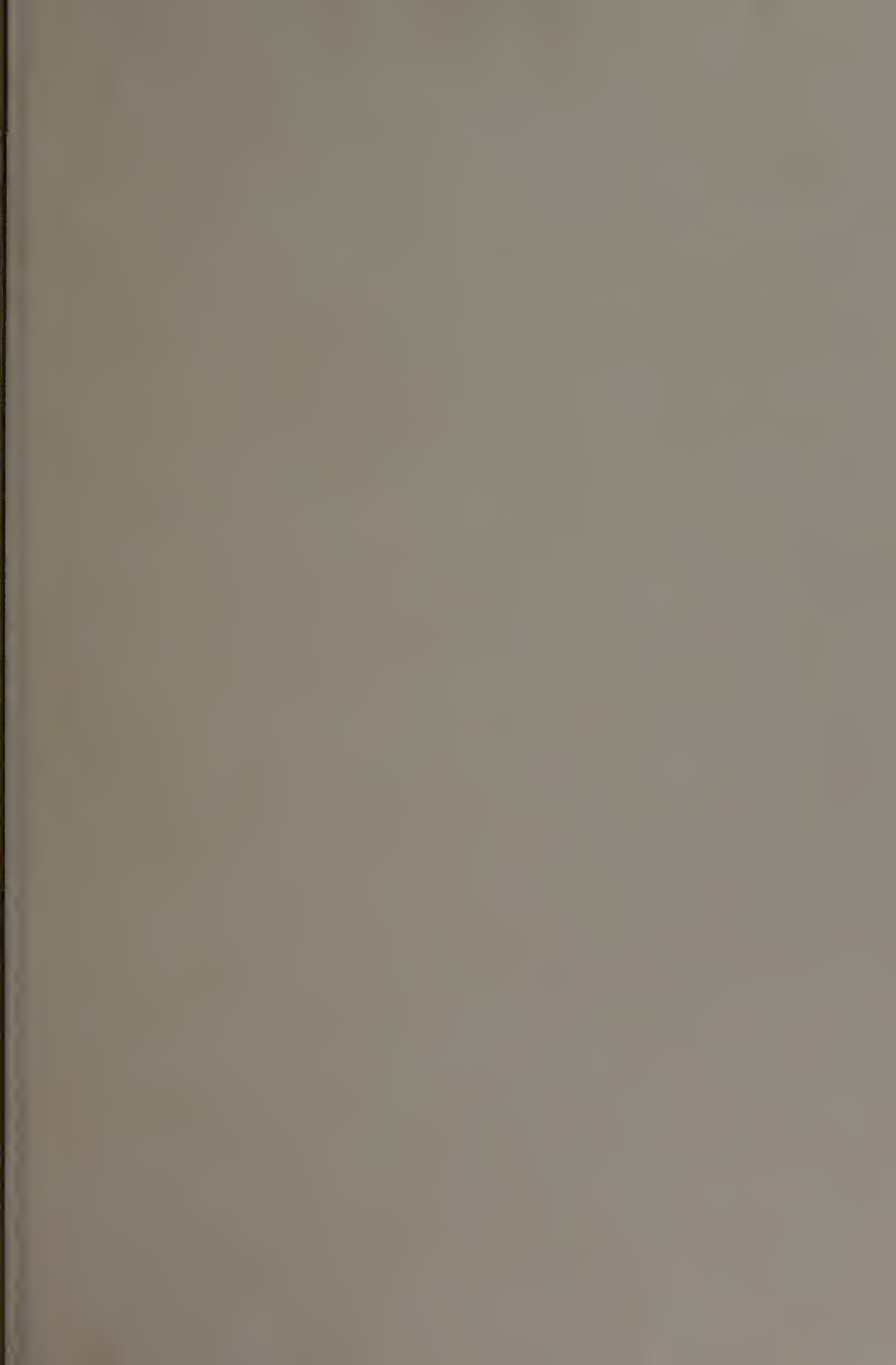
2) Die tödliche Molekularkonzentration nimmt zu, wie die Ionenkonzentration abnimmt, aber die Zunahme der ersteren ist nicht umgekehrt proportional der Abnahme der letzteren, so daß die tödliche Ionenkonzentration geringer ist für die weniger dissociierten Säuren und Basen als für stark dissociierte Säuren und Basen (Tabellen 3 und 4). Hieraus folgt, daß

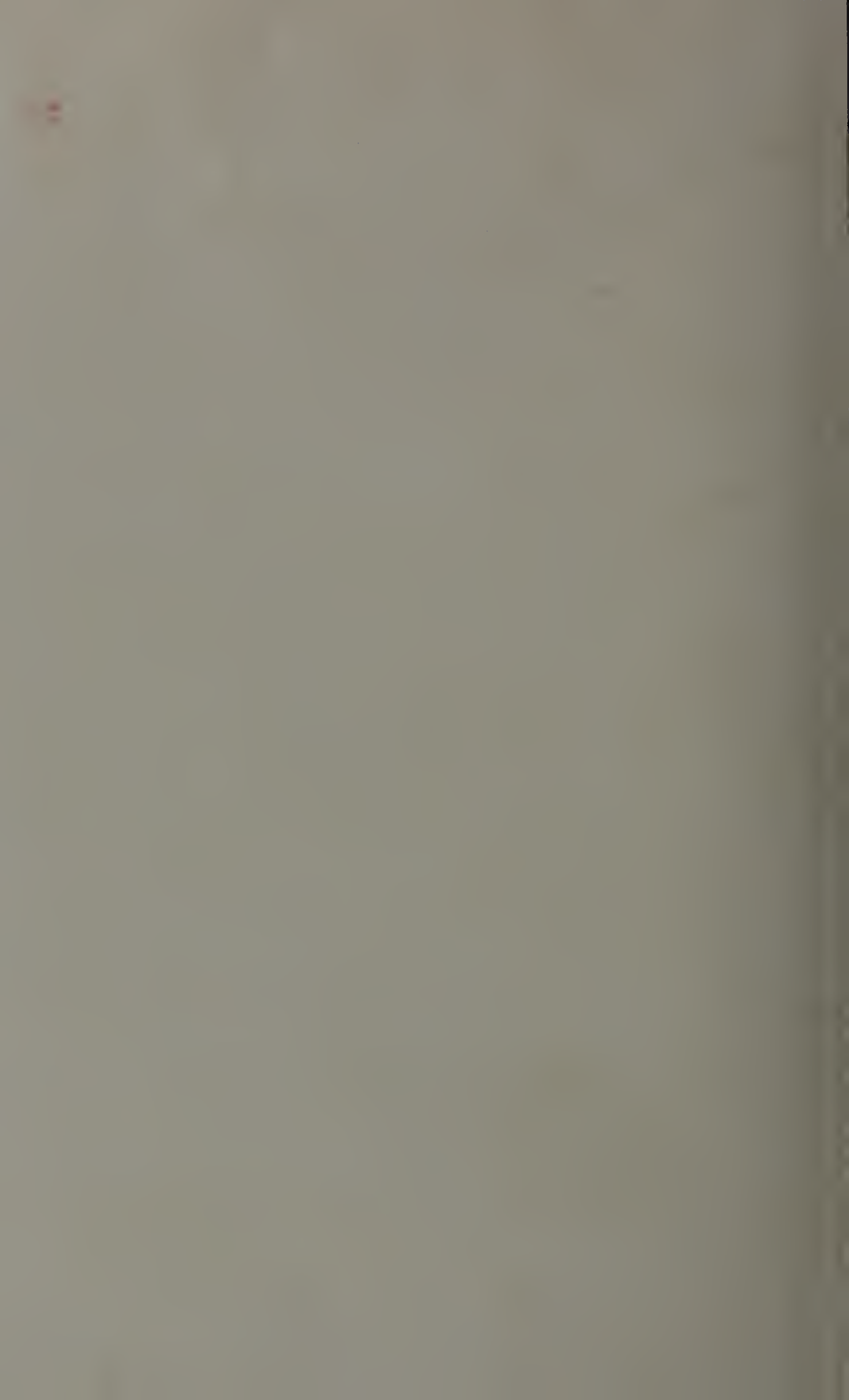
3) die Wirkung von Säuren und Alkalien auf das lebende Protoplasma von Paramäcien kein katalytischer Prozeß ist, denn in diesem Falle würde die von H^+- resp. OH^--Ionen abhängende tödliche Ionenkonzentration konstant sein, was nicht der Fall ist (Tabellen 3 und 4).

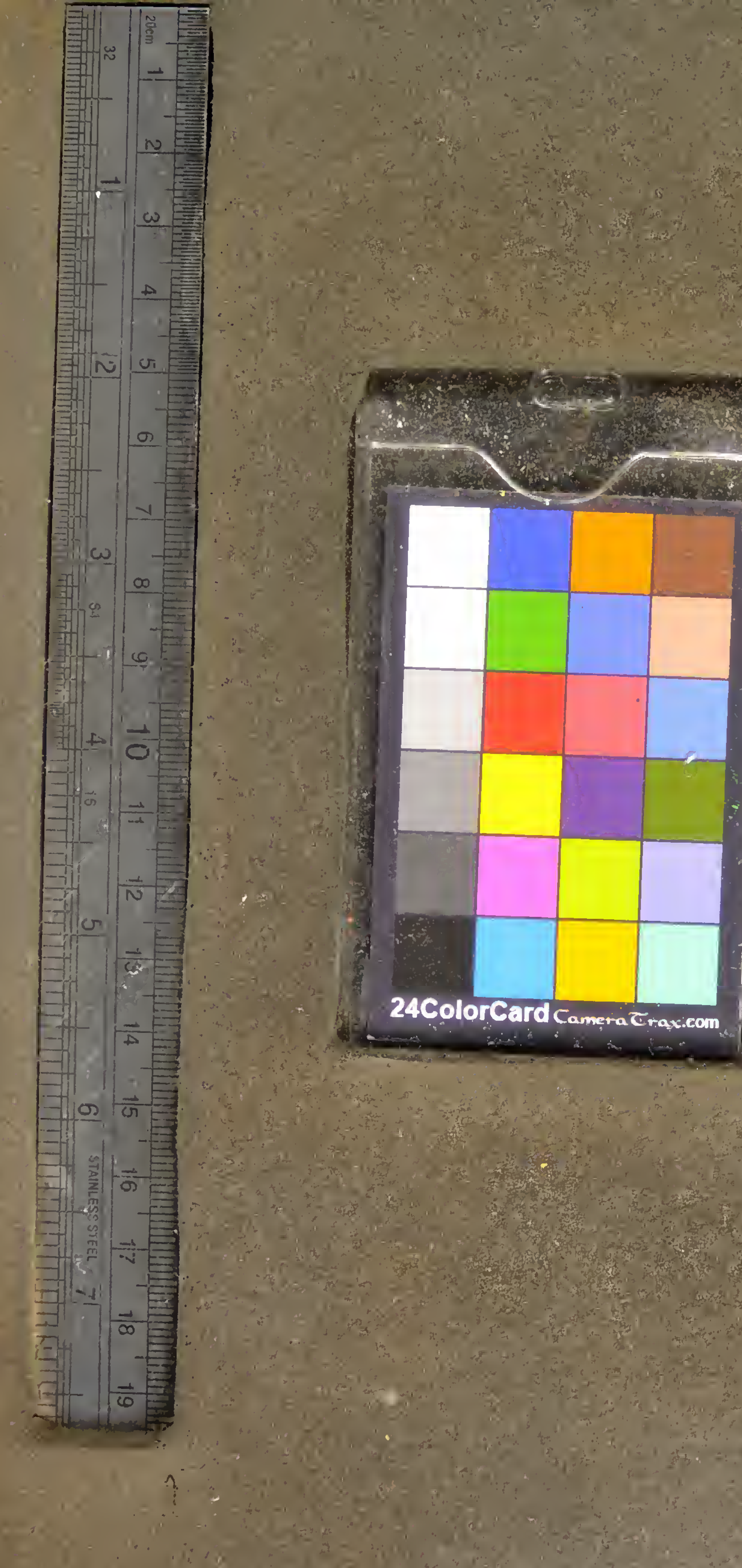
4) Die Wirkung von Säuren und Alkalien auf das lebende Protoplasma von Paramäcien gibt sich auf Grund der Feststellung der relativen Leitfähigkeit als eine chemische Reaktion kund, bei welcher Säure und Alkali in meßbaren Mengen aufgebraucht werden (Tabellen 10—12). Die Methode ist nicht verwendbar für die Erforschung jener Säuren und Basen, die außerordentlich schwache Elektrolyte sind.

5) Die Mengen von Säure und Alkali, die mit lebendem Protoplasma eine Reaktion eingehen, sind gering; die der ersteren ist viel geringer als die der letzteren (Tabellen 10—12).

Zum Schluß erlaube ich mir, Herrn Prof. Dr. Max Verworn, in dessen Laboratorium diese Untersuchungen ausgeführt wurden, für seinen steten Rat und Beistand meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.






24ColorCard CameraTrax.com
STAINLESS STEEL